



TriTest CD3 FITC/ CD19 PE/CD45 PerCP Reagent

50 тестов на флакон — кат. № 342412

50 тестов на флакон с пробирками

TruCOUNT — кат. № 342443

Для определения процентных долей и абсолютных значений Т- и В-лимфоцитов человека в лизированной цельной крови

6/2010

23-13681-01



BD, логотип BD и другие товарные знаки являются собственностью компании Becton, Dickinson and Company. © 2010 BD



Becton, Dickinson and Company

BD Biosciences

San Jose, CA 95131

Тел.: 877-232-8995

Факс: 408-954-2347

ClinicalApplications@bd.com



BENEX Limited

Rineanna House

Shannon Free Zone

Shannon, County Clare

Ирландия

Тел.: 353-61-472920

Факс: 353-61-472907

BD Biosciences

Поддержка клиентов в Европе

Тел.: 322-400-9895

Факс: 322-401-7094

help.biosciences@europe.bd.com

bdbiosciences.com

1. НАЗНАЧЕНИЕ _____

BD TriTEST™ CD3, меченные флуоресцеина изотиоцианатом* (FITC)/CD19, меченные фикоэритрином* (PE)/CD45, меченные перидинин-хлорофилл протеином† (PerCP) представляет собой реагент для прямой трех-цветной иммунофлуоресценции, предназначенный для использования с надлежащим образом оснащенным проточным цитометром для идентификации и определения процентных долей и абсолютных значений зрелых Т (CD3⁺) и В (CD19⁺) лимфоцитов человека в лизированной цельной крови. При использовании с пробирками TruCOUNT™ абсолютные значения данных популяций могут быть подсчитаны в одной пробирке.

Реагент BD TriTEST и пробирки TruCOUNT можно использовать с FACS Loader. Реагент можно использовать с либо без применения контроля изотипа.

2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ _____

Лимфоциты человека можно разделить на три большие популяции согласно их биологической функции и экспрессии антигена клеточной поверхности: Т-лимфоциты, В-лимфоциты и естественные киллеры (NK-лимфоциты).

Клиническое применение

Общее количество Т- и В-лимфоцитов используется для описания и мониторинга некоторых форм иммунодефицита¹⁻³ и аутоиммунных заболеваний.^{4,5}

* Патент США № 4 520 110, Европейский патент № 76 695, патент Канады № 1 179 942.

† Патент США № 4 876 190.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

При добавлении цельной крови к реагентам меченные флуорохромом антитела в реагенте специфично связываются с поверхностными антигенами лейкоцитов. В процессе сбора данных клетки проходят через луч лазера и рассеивают его свет. Окрашенные клетки флуоресцируют. Данные сигналы светорассеяния и флуоресценции, обнаруженные прибором, предоставляют информацию о размере клетки, внутренней сложности и относительной интенсивности флуоресценции. Реагенты TriTEST активируют флуоресценцию, делая возможным гейтирование популяции лимфоцитов для прямой флуоресценции^{6–8} с целью снизить количество проникновений нелизированных или ядродержащих эритроцитов в гейт.

При использовании пробирок TruCOUNT определенный объем образца окрашивается непосредственно в пробирке TruCOUNT. Лиофилизированный осадок в пробирке растворяется, высвобождая определенное число флуоресцентных частиц. Во время анализа абсолютное количество (клеток/мкл) положительных клеток в образце определяется путем сравнения частоты встречаемости клеток и частиц. При использовании соответствующего программного обеспечения, например MultiSET™, абсолютные значения рассчитываются автоматически. При анализе данных вручную с использованием такого программного обеспечения, как CellQuest™, необходимо разделить количество подсчитанных положительных клеток на количество подсчитанных частиц, а затем умножить на концентрацию частиц TruCOUNT.

4. РЕАГЕНТ

В комплекте реагент, достаточный для проведения 50 анализов

Реагент BD TriTEST CD3/CD19/CD45 reagent поставляется в 1 мл забуференного физиологического раствора с бычьим сывороточным альбумином и 0,1 % азида натрия. Он содержит меченные FITC CD3, клон SK7,^{9–11} меченные PE CD19, клон SJ25C1,¹² и меченные PerCP CD45, клон 2D1 (HLE-1).¹³

CD3 определяет T-лимфоциты и распознает эpsilon-цепь комплекса рецептора антигена CD3/T-клеточного антигена (TcP).¹⁴ Этот комплекс состоит из не менее чем шести белков с молекулярной массой от 20 до 30 килодальтон (кДа).¹⁵ Антиген, распознаваемый антителами к CD3, нековалентно связан с TcP α/β или γ/δ (от 70 до 90 кДа).¹⁶

CD19 определяет B-лимфоциты и распознает антиген молекулярной массой 90 кДа, который присутствует на B-лимфоцитах человека на всех этапах их созревания, но отсутствует на плазматических клетках.¹⁷ Антиген CD19 может участвовать в активации и пролиферации B-лимфоцитов.¹⁷

CD45 определяет лейкоциты и распознает антиген лейкоцитов человека молекулярной массой от 180 до 220 кДа, который является членом семейства общих лейкоцитарных антигенов (LCA).¹⁸

Антитела CD3, CD19 и CD45 состоят из тяжелых цепей γ_1 мыши и легких каппа-цепей.

Пробирки TruCOUNT содержат лиофилизированные гранулы флуоресцентных частиц для одноразового использования. В каждом пакете TruCOUNT содержится 25 пробирок, чего достаточно для проведения 25 анализов.

Меры предосторожности

1. Для диагностики *in vitro*.
2. Не использовать реагент, если наблюдаются какие-либо изменения внешнего вида. Осадок или обесцвечивание свидетельствуют о нестабильности или порче.
3. Реагент на основе антителей в качестве консерванта содержит азид натрия, однако следует принимать меры предосторожности во избежание микробного загрязнения, которое может приводить к получению неверных результатов.

ОСТОРОЖНО! Азид натрия вреден при приеме внутрь (R22). Хранить в недоступном для детей месте (S2). Держать вдали от пищи, напитков и корма для животных (S13). Использовать подходящую защитную одежду (S36). При попадании внутрь немедленно обратитесь за медицинской помощью и покажите данную упаковку или этикетку (S46). При взаимодействии с кислотами выделяется высокотоксичный газ (R32). Азидные соединения при утилизации необходимо смывать большим количеством воды во избежание осаждения на свинцовых или медных трубах, где возможно возникновение взрывоопасных условий.

4. **ОСТОРОЖНО!** Все биологические образцы и контактирующие с ними материалы рассматриваются как биологически опасные материалы. Они подлежат обращению как с потенциальным источником инфицирования^{19, 20} и требуют утилизации с соблюдением надлежащих мер предосторожности в соответствии с федеральными, региональными и местными нормативами. Не выполнять

пипетирование ртом. Использовать надлежащую защитную одежду и перчатки. Насколько известно, фиксация инактивирует ВИЧ.²¹

5. Необходим лизирующий раствор FACS™ Lysing Solution*, содержащий диэтиленгликоль и формальдегид. Предостережения см. на вкладыше упаковки FACS Lysing Solution.
6. При использовании пробирок TruCOUNT для получения точных результатов крайне важно добавлять точное количество крови. Пипетки должны быть откалиброваны таким образом, чтобы добавлять ровно 50 мкл образца. В каталоге компании BD доступны электронные пипетки, работающие в режиме обратного пипетирования (см. раздел 7 в «Необходимые реагенты и материалы, не входящие в комплект»). В случае использования других пипеток следует применять технику обратного пипетирования (краткое описание см. в пункте «Обратное пипетирование» в разделе 7). Для получения дополнительной информации см. инструкцию производителя пипетки.
7. Содержание частиц в пробирках TruCOUNT разное для каждой партии. Критически важным при введении значения содержания частиц в программное обеспечение или ручном подсчете абсолютных значений является использование значения, указанного на текущей партии пробирок TruCOUNT. Не используйте пробирки из разных партий при проведении одного анализа.

* Патенты США №№ 4 654 312, 4 902 613 и 5 098 849.

8. Пробирики TruCOUNT разработаны для использования со специфичной процедурой лизирования/без промывки. Для сбора данных не пытайтесь преодолеть порог прямого светорассеяния (FSC).

Хранение и обращение

1. Хранить реагент при температуре 2—8 °С. Не использовать после истечения срока годности, указанного на этикетке.
2. Реагент не замораживать и не подвергать воздействию прямого солнечного света при хранении или инкубации с клетками. Пробирка с реагентом должна оставаться сухой.
3. Пробирики TruCOUNT следует хранить в пакете предприятия-изготовителя из полимерной пленки при температуре от 2 до 25 °С. Во избежание конденсации пакет следует открывать только после достижения им комнатной температуры и тщательно запечатывать его сразу после извлечения пробирки. Проверяйте влагопоглотитель при каждом открывании пакета. Если влагопоглотитель изменил цвет с голубого на бледно-лиловый, утилизируйте оставшиеся пробирки. Использовать пробирки необходимо не позднее чем через 1 час после извлечения из пленочного пакета. Не используйте пробирки после даты истечения срока годности, которая указана на упаковке.

5. ПРИБОР

TruTEST CD3/CD19/CD45 reagent и пробирки TruCOUNT предназначены для использования на проточных цитометрах с соответствующим аппаратным и программным компьютерным обеспечением. Компания BD рекомендует

проточные цитометры FACSCalibur™, FACSort™ или FACScan™. Однако при использовании других платформ также можно получить результаты. Проточный цитометр должен быть оснащен лазером 488 нм и быть способным определять рассеяние света (прямое и боковое) и трехцветную флуоресценцию с излучением, обнаруживаемом в трех диапазонах: 515—545 нм, 562—607 нм и > 650 нм. Прибор должен обладать возможностью установки порогового уровня или дискриминации с использованием канала > 650 нм. С данным прибором можно также использовать FACS Loader.

Для настройки напряжений фотоэлектронного умножителя (ФЭУ), компенсации флуоресценции и проверки прибора на чувствительность перед эксплуатацией компания BD рекомендует использовать частицы CaliBRITE™ Beads и программное обеспечение FACSComp™ версии 2.0 или более поздней. Операторам проточных цитометров производства других компаний (кроме BD) следует обратиться к инструкции производителя по настройке трехцветного иммунофенотипирования.

В компании BD разработано программное обеспечение (такое как MultiSET) автоматически рассчитывающее абсолютные значения при использовании пробирок TruCOUNT. Тем не менее, для сбора данных и анализа можно использовать другое программное обеспечение, а абсолютные значения могут быть рассчитаны вручную.

6. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Отберите кровь посредством венопункции^{22, 23} с соблюдением правил асептики в стерильную вакуумную

пробирку VACUTAINER® с EDTA-K₃ (этилендиаминтетраацетатом) (с крышечкой бледно-лилового цвета). TriTest CD3/CD19/CD45 reagent и пробирки TruCOUNT были проверены на использование как с жидкой, так и с сухой формой EDTA-K₃. Для анализа необходимо не менее 100 мкл цельной крови. Соблюдайте инструкции производителя пробирки для отбора крови в отношении минимального объема крови, который необходимо отобрать, чтобы обеспечить нужное разбавление образца, особенно при определении абсолютных значений с использованием частиц TruCOUNT.

Получите количество лейкоцитов и лейкоцитарную формулу в одном и том же образце цельной крови перед окрашиванием, чтобы убедиться, что количество лейкоцитов находится в пределах линейного диапазона (см. пункт «Линейность» в разделе 11 «Рабочие характеристики»), или чтобы посчитать абсолютные значения по процентным долям.

При определении абсолютных значений кровь с антикоагулянтом, хранимую при комнатной температуре (20—25 °C), необходимо окрашивать не позднее 6 часов с момента отбора и анализировать не позднее 6 часов с момента окрашивания. При определении процентных долей образцы крови, хранимые при комнатной температуре, необходимо окрашивать не позднее 24 часов с момента отбора и анализировать не позднее 24 часов с момента окрашивания.

Мешающие факторы

Не используйте ранее зафиксированные и хранившиеся образцы от пациентов. Образцы крови, охлажденные перед окрашиванием, могут давать искаженные результаты. Образцы, взятые у пациентов, получающих иммунодепрессанты, могут

давать плохое разрешение.²⁴ Бластные клетки могут искажать результаты анализа. Следует отказаться от использования гемолизированных образцов.

7. ПРОЦЕДУРА

Поставляемый реагент

- TriTEST CD3 FITC/CD19 PE/CD45 PerCP reagent (BD кат. № 342412) или
- TriTEST CD3 FITC/CD19 PE/CD45 PerCP reagent с пробирками TruCOUNT (BD кат. № 342443).

Необходимые реагенты и материалы, не входящие в комплект

1. Частицы CaliBRITE 3 (BD кат. № 340486).
2. FACS Lysing Solution (10-кратный), 100 мл (BD кат. № 349202). Инструкции по разведению и предостережения см. на вкладыше упаковки *FACS Lysing Solution*.
3. Чистая вода (дистиллированная или деионизированная).
4. Пробирки для отбора крови VACUTAINER с EDTA-K₃ или эквивалентные.
5. Одноразовые полистироловые пробирки Falcon™ с крышками 12 x 75 мм (BD кат. № 352058) или эквивалентные (если не используются пробирки TruCOUNT).
6. Вихревая мешалка «вортекс».
7. Дозатор с наконечниками (электронная пипетка BD, BD кат. № 646539, или эквивалентный).
8. Дозатор масс или пипеточный дозатор (450 мкл) для дозирования FACS Lysing Solution.
9. Проточная жидкость (FACSFlow™, BD кат. № 342003, или эквивалентная).

10. Контрольные образцы TruCOUNT (BD кат. № 340335), необходимы при использовании пробирок TruCOUNT.

11. Контрольный образец лизируемой цельной крови (имеется в продаже).

Окрашивание клеток

Реагенты TriTEST могут использоваться как с применением, так и без применения контроля изотипа, для оценки величины неспецифического связывания антител. При необходимости использования контроля доступен реагент контроля изотипа IgG₁/IgG₁/CD45 (BD кат. № 342415).

Лизируйте эритроциты, затем окрашивайте, используя разведенный (однократный) FACS Lysing Solution. Защищайте пробирки от попадания прямого света. Выполняйте процедуру при комнатной температуре (20—25 °С). См. «Меры предосторожности» в разделе 4 и «Мешающие факторы» в разделе 6.

Обратное пипетирование

При использовании пробирок TruCOUNT для получения точных результатов крайне важно добавлять точное количество крови. Если электронная пипетка BD или ее аналог, предназначенный для добавления в пробирки точного количества крови, не применяются, используйте технику обратного пипетирования. В данной методике используются два упора пипетки.

- При обратном пипетировании кнопка нажимается до второго упора. После отпускания кнопки образец поступает в наконечник с избытком. Точный объем образца выливается путем нажатия кнопки до первого упора, при этом избыток образца остается в наконечнике.

Окрашивание

1. Для каждого образца пометьте пробирку 12 x 75 мм идентификационным номером образца.

Для абсолютных величин вместо пробирки 12 x 75 мм пометьте пробирку TruCOUNT.

ПРИМЕЧАНИЕ. Перед использованием следует удостовериться в том, что осадок частиц TruCOUNT интактен и находится под металлической сеточкой на дне пробирки. Если это не так, утилизируйте пробирку TruCOUNT и используйте новую.

2. Внесите 20 мкл реагента TriTEST CD3/CD19/CD45 на дно каждой пробирки.

При использовании пробирок TruCOUNT, вносите реагент чуть выше сеточки из нержавеющей стали. Не прикасайтесь к осадку.

3. Внесите 50 мкл хорошо перемешанной цельной крови с антикоагулянтом на дно пробирки.

ПРИМЕЧАНИЕ. Не допускайте растекания крови по стенкам пробирки. Если цельная кровь останется на стенке пробирки, она не окрасится реагентом.

При использовании пробирок TruCOUNT точность внесения очень важна. Используйте технику обратного пипетирования для внесения образца на стенку пробирки чуть выше сеточки.

4. Закройте пробирку и аккуратно перемешайте на вортексе. Инкубируйте 15 минут в темноте при комнатной температуре (20—25 °С).

5. Добавьте в пробирку 450 мкл однократного FACS Lysing Solution.

6. Закройте пробирку и аккуратно перемешайте на вортексе. Инкубируйте 15 минут в темноте при комнатной температуре (20—25 °C). Образец готов для анализа на проточном цитометре.

Проточная цитометрия

Если образцы не будут проанализированы сразу после подготовки, их следует хранить в темноте при комнатной температуре (20—25 °C).

Для уменьшения агрегации перед запуском в проточный цитометр тщательно перемешайте клетки на вортексе на малой скорости.²⁵ При использовании FACS Loader перемешайте содержимое пробирок на вортексе непосредственно перед их размещением в подставки загрузчика. Получите и проанализируйте данные с помощью соответствующего программного обеспечения, например CellQuest или MultiSET. Прежде чем анализировать образцы, отрегулируйте порог для минимизации дебриса и убедитесь, что целевые популяции включены в анализ.

Контроль качества

Ежедневно выполняйте анализ контрольного образца здорового взрослого донора или коммерческого контрольного образца цельной крови для оптимизации настроек прибора и в целях контроля качества системы.²³ Дополнительно с помощью реагента контроля изотипа TruTEST можно установить флуоресцентные маркеры с целью обнаружения неспецифического окрашивания.

При каждом запуске для оценки производительности системы используйте коммерческие контрольные образцы с установленными уровнями процентных долей и абсолютных значений.

Визуально проверьте точечную диаграмму CD45 и SSC. Популяция лимфоцитов должна отображаться в виде яркого, компактного кластера с низким SSC. Моноциты и гранулоциты также должны отображаться в виде отчетливых кластеров. Не продолжайте анализ, если популяции рассеяны и разделение между кластерами отсутствует или очень слабое.

На рис. 1, 2 и 3 изображены репрезентативные данные гематологически нормального образца взрослого человека, окрашенного CD3/CD19/CD45 в пробирке TruCOUNT.

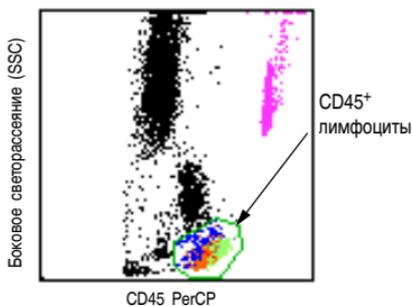


Рис. 1. Точечная диаграмма негейтированных CD45 и SSC

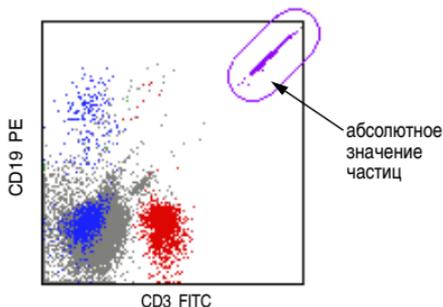


Рис. 2. Точечная диаграмма негейтированных CD3 и CD19 с гейтом частиц TruCOUNT

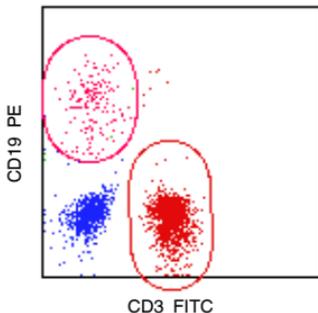


Рис. 3. Точечная диаграмма лимфоцит-гейтированных CD3 и CD19

8. РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты представлены в виде процентной доли положительных клеток в популяции лимфоцитов либо в виде количества положительных клеток на микролитр крови (абсолютное значение).

Расчет абсолютного значения

Во время анализа абсолютное количество (клеток/мкл) положительных клеток в образце определяется путем сравнения частоты встречаемости клеток и частиц. При использовании клинического программного обеспечения MultiSET абсолютные значения рассчитываются автоматически. При анализе данных вручную с использованием программного обеспечения CellQuest или других программ необходимо разделить количество подсчитанных положительных клеток на количество подсчитанных частиц, а затем умножить на концентрацию частиц TruCOUNT.

$$\frac{\text{частота событий в области с популяцией клеток}}{\text{частота событий в области абсолютного значения частиц}} \times \frac{\text{количество частиц/тест}^*}{\text{тестируемый объем}} = \text{абсолютное количество клеток популяции}$$

* Это значение указано на этикетке пакета с пробирками TruCOUNT и в различных партиях может отличаться.

9. ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Лаборатории должны установить свои собственные диапазоны нормальных значений для параметров реагента TruTEST CD3/CD19/CD45, на которые могут оказывать влияние пол пациента, его возраст и процедура подготовки образца. Расовая принадлежность пациента также может оказывать влияние,²⁶ хотя нет достаточных данных, подтверждающих этот факт. Для определения нормального диапазона следует знать возраст, пол, клиническую картину заболевания и расовую принадлежность пациентов.²⁷ Указанные диапазоны нормальных значений носят только информационный характер.
2. TruTEST CD3/CD19/CD45 reagent не проверен для использования с жидкими антикоагулянтами гепарином и цитратным антикоагулянтом с декстрозой при расчете абсолютных значений с использованием пробирок TruCOUNT.
3. TruTEST CD3/CD19/CD45 reagent не предназначен для скрининга образцов на наличие лейкозных клеток или для использования с образцами для фенотипирования пациентов, больных лейкемией.
4. Абсолютные значения различны в лабораториях, использующих оборудование разных производителей.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Нормальные диапазоны

Диапазоны нормальных значений для CD3/CD19/CD45, представленные в таблице 1, были определены в лабораториях компании в Сан-Хосе, штат Калифорния, а также четырех клинических центрах: Клинике Кливленда (Cleveland Clinic Foundation), Кливленд, штат Огайо; Госпитале Джона Хопкинса (Johns Hopkins

Hospital), Балтимор, штат Мэриленд; Институте тропической медицины (Institute of Tropical Medicine), Антверпен, Бельгия; Госпитале при университете Северной Каролины (University of North Carolina Hospital), Чапел-Хилл, Северная Каролина. Субъектами выступали взрослые здоровые люди в возрасте от 18 до 65 лет.

Табл. 1. Репрезентативные нормальные диапазоны CD3/CD19/CD45 взрослых доноров с нормальными гематологическими характеристиками

Субпопуляция	n	Среднее значение	Нижний перцентиль 2,5	Верхний перцентиль 97,5
В-лимфоциты (%)	516	14	6	25
Всего Т-лимфоцитов (%)	516	72	55	84
В-лимфоциты (клеток/мкл) ^a	516	280	90	660
Всего Т-лимфоцитов (клеток/мкл) ^a	516	1410	690	2540

a. Абсолютные значения округлены до ближайших 10 клеток/мкл.

Данные нормальные диапазоны являются усредненными. Для получения подробной информации о нормальных диапазонах обратитесь в службу поддержки клиентов компании BD. Более подробная информация о диапазонах нормальных значений указана в пункте I раздела «Ограничения».

11. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ _____

Рабочие характеристики реагентов были установлены в результате испытаний в лабораториях компании BD Biosciences, Сан-Хосе, штат Калифорния, внешнем медицинском центре в США или Европе, или сразу в нескольких центрах.

Точность

Результаты подсчета процентных долей субпопуляции лимфоцитов с TriTEST CD3/CD19/CD45 сравнивались с результатами Simultest™ CD3/CD19. Абсолютные значения сравнивались с результатами Simultest и значениями лимфоцитов, полученными с помощью гематологического анализатора.

Анализируются аликвоты одних и тех же образцов здоровых доноров и пациентов с патологией. Статистика регрессии, приведенная в таблице 2, показывает практически эквивалентные результаты.

Табл. 2. Регрессионный анализ

Субпопуляция	n	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	R	Диапазон
В-лимфоциты (%)	167	0,94	1,6 %, положительно	0,94	0—44
Всего Т-лимфоцитов (%)	167	0,91	5,7 %, положительно	0,96	24—94
В-лимфоциты (клеток/мкл)	166	0,97	24 клеток/мкл	0,95	0—1370 ^a
Всего Т-лимфоцитов (клеток/мкл)	166	0,93	118 клеток/мкл	0,95	130—3710 ^a

a. Абсолютные значения округлены до ближайших 10 клеток/мкл.

Воспроизводимость для одного образца

Оценивалось десять аликвот экземпляров трех образцов, показывающих высокое, среднее и низкое количество CD4. % положительных результатов составил (SD = стандартное отклонение):

- % CD19: среднее значение = 14, сводное SD = 0,8
- % CD3: среднее значение = 66, сводное SD = 1,1

Результаты подсчета абсолютных количеств представлены в таблице 3.

Табл. 3. Воспроизводимость для одного образца для реагента Tritest CD3/CD19/CD45

Субпопуляция	Уровень	Среднее значение	SD	CV (%)
В-лимфоциты (клеток/мкл)	Высокий	1197	160	13
	Средний	253	23	9
	Низкий	104	24	23
Всего Т-лимфоцитов (клеток/мкл)	Высокий	3202	308	10
	Средний	1922	157	8
	Низкий	672	122	18

Стабильность

Было проведено исследование стабильности рабочих характеристик реагента Tritest в отношении относительно спецификаций. В рамках исследования измеряли: 1) изменения, связанные с хранением цельной крови перед окрашиванием; 2) изменения по прошествии времени между окрашиванием и сбором данных; 3) совмещение этих двух эффектов.

Основываясь на результатах исследования, рекомендуется* проводить окрашивание в пределах 6 часов после забора и анализировать окрашенные образцы в пределах 6 часов после окрашивания для абсолютных значений, или проводить окрашивание в пределах 24 часов после забора и анализировать окрашенные образцы в пределах 24 часов после окрашивания для процентных долей.

Перекрестная реактивность

CD3 и CD19 не обладают известной перекрестной реактивности с нелимфоцитарными элементами крови.

Однако, наблюдались реакции этого клона CD19 с фолликулярными дендритными клетками в зародышевых центрах лимфоидной ткани в виде гистохимического окрашивания.²⁸

Линейность

Линейность оценивалась путем тестирования концентрации лейкоцитов в пределах от $2,5 \times 10^3$ до 31×10^3 лейкоцитов/мкл и концентрации лимфоцитов в пределах от $2,0 \times 10^2$ до $16,7 \times 10^3$ лимфоцитов/мкл. Результаты были линейными для диапазона CD19⁺ (от 52 до $2,4 \times 10^3$ клеток/мкл) и диапазона CD3⁺ (от 125 до $11,3 \times 10^3$ клеток/мкл).

ГАРАНТИЯ

Для продаваемых согласно данным условиям продуктов гарантируется только соблюдение количества и содержимого, указанных на этикетке или маркировке продукта на момент доставки заказчику. Не существует никаких гарантий, явных или подразумеваемых, выходящих за рамки описания на этикетке продукта. Вся ответственность компании BD ограничивается либо заменой продуктов, либо возмещением цены покупки. BD не несет ответственности за повреждение имущества, получение травм или экономический ущерб, вызванные продуктом.

* Данные доступны в BD Biosciences.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Schmidt RE. Monoclonal antibodies for diagnosis of immunodeficiencies. *Blut*. 1989;59:200-206.
- Nicholson JKA. Use of flow cytometry in the evaluation and diagnosis of primary and secondary immunodeficiency diseases. *Arch Pathol Lab Med*. 1989;113:598-605.
- Foucar K, Goeken JA. Clinical application of immunologic techniques to the diagnosis of lymphoproliferative and immunodeficiency disorders. *Lab Med*. 1982;13:403-413.
- Cohen SB, Weetman AP. Activated interstitial and intraepithelial thyroid lymphocytes in autoimmune thyroid disease. *Acta Endocrinol*. 1988;119:161-166.
- Smolen JS, Chused TM, Leiserson WM, Reeves JP, Alling D, Steinberg AD. Heterogeneity of immunoregulatory T-cell subsets in systemic lupus erythematosus: correlation with clinical features. *Am J Med*. 1982;72:783-790.
- Nicholson JKA, Jones BM, Hubbard M. CD4 T-lymphocyte determinations on whole blood specimens using a single-tube three-color assay. *Cytometry*. 1993;14:685-689.
- Nicholson J, Kidd P, Mandy F, Livnat D, Kagan J. Three-color supplement to the NIAID AIDS guideline for flow cytometric immunophenotyping. *Cytometry*. 1996;26:227-230.
- Nicholson JKA, Hubbard M, Jones BM. Use of CD45 fluorescence and side-scatter characteristics for gating lymphocytes when using the whole blood lysis procedure and flow cytometry. *Cytometry*. 1996;26: 16-21.
- Haynes BF. Summary of T-cell studies performed during the Second International Workshop and Conference on Human Leukocyte Differentiation Antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986:3-30.
- Kan EAR, Wang CY, Wang LC, Evans RL. Noncovalently bonded subunits of 22 and 28 kd are rapidly internalized by T cells reacted with Anti-Leu-4 antibody. *J Immunol*. 1983;131:536-539.
- Knowles RW. Immunochemical analysis of the T-cell-specific antigens. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human T Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;1:259-288.
- Nadler LM. B Cell/Leukemia Panel Workshop: summary and comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human B Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;2:3-43.
- Cobbold SP, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, ed. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1987:788-803.
- van Dongen JJM, Krissansen GW, Wolvers-Tettero ILM, et al. Cytoplasmic expression of the CD3 antigen as a diagnostic marker for immature T-cell malignancies. *Blood*. 1988;71:603-612.
- Brenner MB, McClean J, Dialynas DP, et al. Identification of a putative second T cell receptor. *Nature*. 1986;322:145-149.
- Clevers H, Alarcón B, Wileman T, Terhorst C. The T cell receptor/CD3 complex: a dynamic protein ensemble. *Annu Rev Immunol*. 1988;6:629-662.
- Dörken B, Möller P, Pezutto A, Schwartz-Albiez R, Moldenhauer G. B-cell antigens: CD19. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:34-36.
- Schwinger R. Cluster report: CD45/CD45R. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:628-634.
- Centers for Disease Control. Update: universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and other bloodborne pathogens in health-care settings. *MMWR*. 1988;37:377-388.
- Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue: Tentative Guideline*. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1991. NCCLS document M29-T2.
- Nicholson JK, Browning SW, Orloff SL, McDougal JS. Inactivation of HIV-infected H9 cells in whole blood preparations by lysing/fixing reagents used in flow cytometry. *J Immunol Methods*. 1993;160:215-218.
- Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture: Approved Guideline*. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1991. NCCLS document H3-A3.
- Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Peripheral Blood Lymphocytes; Tentative Guideline*. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1992. NCCLS document H42-T.
- Giorgi JV. Lymphocyte subset measurements: significance in clinical medicine. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:236-246.

25. Jackson AL, Warner NL. Preparation, staining, and analysis by flow cytometry of peripheral blood leukocytes. In: Rose NR, Friedman H, Fahey JL, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:226-235.
26. Prince HE, Hirji K, Waldbeser LS, Plaeger-Marshall S, Kleinman S, Lanier LL. Influence of racial background on the distribution of T-cell subsets and Leu 11-positive lymphocytes in healthy blood donors. *Diagn Immunol*. 1985;3(1):33-37.
27. *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory: Approved Guideline*. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1992. NCCLS document C28-A.
28. Berti E, Parravicini C, Cattoretti G, Delia D, de Braud F, Cusini M. Immunohistochemical reactivity of anti-B cell monoclonal antibodies in thymus, lymph node, and normal skin. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, eds. *Leukocyte Typing II: Human B Lymphocytes*. New York, NY: Springer-Verlag; 1986;2:313-318.