



BD Simultest Leucogate (CD45/CD14) Reagent

50 тестов на флакон — кат. № 342408

Для гейтирования лимфоцитов и контроля качества иммунофенотипирования

6/2010

23-13726-01



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 Simultest™ Leucogate™ (CD45/CD14) reagent представляет собой реагент для прямой иммунофлуоресценции с двухцветной меткой для установки оптимального гейта лимфоцитов для иммунофенотипирования клеток лизированной цельной крови. BD Simultest Leucogate предназначается для диагностики *in vitro* с использованием реагентов компании BD. Дополнительную информацию см. в соответствующей инструкции-вкладыше упаковки продуктов BD для диагностики *in vitro*.

2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Для иммунофенотипирования лимфоцитов человека методом проточной цитометрии могут использоваться BD Leucogate, отрицательный контроль и один или более реагентов с моноклональными антителами, которые реагируют с антигенами клеточной поверхности лимфоцитов. BD Simultest Leucogate reagent используется для создания гейта по параметру светорассеяния вокруг лимфоцитов. Гейтирование необходимо, так как реагенты с моноклональными антителами для иммунофенотипирования могут реагировать не только с лимфоцитами, но и с другими клетками препаратов цельной лизированной крови. BD Simultest Leucogate предоставляет возможность описания и подсчета гейтированных клеток, таким образом обеспечивая контроль качества получаемых данных. Гейт анализа лимфоцитов может засоряться нелимфоцитарными компонентами цельной лизированной крови, включая моноциты, гранулоциты (нейтрофилы, эозинофилы, базофилы) и дебрис (остаточные эритроциты, тени эритроцитов и тромбоциты).¹

ПРИМЕЧАНИЕ. Дополнительную информацию и описание иммунофенотипирования лимфоцитов человека см. в соответствующих инструкциях-вкладышах упаковки реагентов компании BD для диагностического иммунофенотипирования *in vitro*.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

При добавлении реагентов с моноклональными антителами к цельной крови человека меченные флуорохромом антитела специфически связываются с антигенами на поверхности лейкоцитов. Моноклональные антитела могут использоваться для идентификации субпопуляций лимфоцитов.

Аликвота окрашенного образца пациента вносится в проточный цитометр и проходит в узкой струе через луч лазера. Луч лазера вызывает флуоресценцию окрашенных клеток, а излучаемый свет измеряется и обрабатывается проточным цитометром.

Компания BD рекомендует устанавливать гейт анализа лимфоцитов, включающий 98 % или более нормальных зрелых (неблестных) лимфоцитов образца, с помощью реагента BD Simultest Leucogate и программы BD Simulset™ software. Однако если гейт пропускает более 3 % моноцитов, программа автоматически сужает гейт свторассеяния до уровня пропускания не менее чем 95 % лимфоцитов, содержащихся в образце.

Данные пробирки с реагентом BD Simultest Leucogate анализируются в несколько этапов (см. рис. 1). Процедура анализа выполняется автоматически BD Simulset software, однако также может быть выполнена вручную с помощью программы BD CONSORT™ 30 software

или BD LYSYS™ II software (для установки гейта вручную см. рис. 1).

Согласно критерию контроля качества установки гейта анализа лимфоцитов гейт должен пропускать не менее 95 % общего количества лимфоцитов образца. Программа оценивает эффективность гейтирования путем сравнения измеренного количества лимфоцитов в пределах гейта и общего количества лимфоцитов в образце.

В целях контроля качества также можно определить процент каждой выявляемой нелимфоцитарной примеси, входящей в лимфоцитарный гейт. Максимально допустимые проценты нелимфоцитарных элементов, которые могут пропускаться гейтом, составляют: 3 % моноцитов, 6 % гранулоцитов и 10 % дебриса. Значения, превышающие данные пределы, программа пометит флагом.

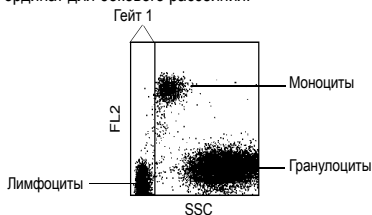
Компания BD также рекомендует установить метки «флуоресценция-1» (FL1) и «флуоресценция-2» (FL2) вокруг негативной популяции лимфоцитов, а также оценить объем антиген-неспецифического связывания антител (неспецифического окрашивания), в частности обусловленного рецепторами Fc, с помощью реагента BD Simultest™ Control γ_1/γ_{2a} (IgG₁ FITC/IgG_{2a} PE) и BD Simulset software.

4. РЕАГЕНТЫ

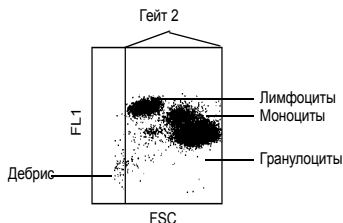
Комплект поставки реагентов в количестве, достаточном для выполнения 50 анализов

BD Simultest Leucogate reagent, количества которого достаточно для выполнения 50 анализов, поставляется в 1 мл буферного солевого раствора, содержащего желатин и 0,1 % азида натрия. Он содержит

Шаг 1. Задайте гейт вокруг популяции лимфоцитов, для которых характерно низкое боковое светорассеяние (SSC) и отрицательная реакция на CD14 PE. Запишите координаты по оси абсцисс и ординат для бокового рассеяния.



Шаг 2. Задайте гейт вокруг лимфоцитов для максимального исключения дробиса. Запишите координаты по оси абсцисс и ординат для прямого светорассеяния (FSC).



Шаг 3. Определите оптимальный гейт лимфоцитов на основе координат FSC и SSC, полученных в шагах 1 и 2.

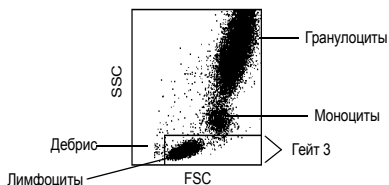


Рис. 1. Последовательность установки оптимального гейта рассеяния для лимфоцитов

меченные флуоресцеина изотиоцианатом (FITC) антитела CD45 (Anti-HLe-1), клон 2D1,²⁻⁴ для определения лейкоцитов, и меченные фикоэритрином (PE) антитела CD14, клон МфP9,⁵⁻⁷ для определения моноцитов. Соотношение флуоресцеина к белку (F:P) в реагентах BD с моноклональными антителами IgG составляет от 2 до 5. Соотношение F:P для CD45 (Anti-HLe-1) FITC оптимизировано в соответствии с его назначением.

Антитело CD45 (Anti-HLe-1)⁴ состоит из тяжелых цепей и легких каппа-цепей мышиного IgG₁. Антиген CD45 присутствует во всех лейкоцитах человека, в том числе в лимфоцитах, моноцитах, гранулоцитах, эозинофилах, базофилах периферической крови, и участвует в передаче сигналов, модифицируя сигналы от других поверхностных молекул.⁸ CD45 распознает антигены лейкоцитов человека массой от 180 до 220 килодальтон (кДа), принадлежащие к семейству T200.⁸

Антитело CD14 состоит из тяжелых цепей и легких каппа-цепей мышиного IgG_{2b}. CD14 распознает антиген моноцитов человека массой 53 кДа.⁹ Антиген CD14 присутствует на большинстве моноцитов нормальной периферической крови.¹⁰

Меры предосторожности

- Для диагностики *in vitro*.
- Хранение при температуре от 2 до 8 °C обеспечивает стабильность реагентов на основе антител до даты истечения срока годности, которая указана на этикетке. Не использовать после истечения срока годности.
- Реагент на основе антител нельзя замораживать или подвергать прямому воздействию света при хранении или инкубации с клетками. Не подвергать флакон с реагентом воздействию влаги.

- Изменение внешнего вида реагента, например, выпадение осадка или обесцвечивание, свидетельствует о нестабильности или старении. В таком случае реагент использовать не следует.
- Реагенты на основе антител в качестве консерванта содержат азид натрия. Однако следует принимать меры для исключения микробного загрязнения, которое может приводить к ошибочным результатам.

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.

ОСТОРОЖНО! Работать со всеми образцами пациентов и материалами, контактировавшими с ними, следует так, как будто они представляют опасность в плане передачи инфекций, а утилизировать с соблюдением всех мер предосторожности в соответствии с федеральными, государственными и местными постановлениями. Не выполнять пипетирование ртом. Не допускать контакта образцов с кожей и слизистыми оболочками.

5. ПРИБОР

BD Simulset Leucogate reagent предназначен для использования с проточным цитометром BD FACSTM, оснащенным соответствующим аппаратным и программным обеспечением, а также электронной системой гейтирования. Проточный цитометр должен быть оснащен компонентами, необходимыми для детектирования двухцветной флуоресценции, прямого (FSC) и бокового (SSC) рассеяния. Компания BD рекомендует использовать BD Simulset software версии 2.5 или более поздней для сбора и анализа данных.

Все рабочие характеристики были получены с использованием проточного цитометра BD FACScan™ и проверены с использованием проточного цитометра BD FACStrak™. Другие системы могут иметь другие характеристики и подлежат проверке пользователем.

Для получения информации по использованию данного реагента в исследовательских целях на других приборах торговой марки BD FACS обратитесь в центр поддержки клиентов компании BD.

6. ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Отберите кровь посредством венепункции^{11, 12} с соблюдением правил асептики в стерильную вакуумную пробирку BD Vacutainer® с EDTA-K₃ (бледно-лиловая крышка). Для данной процедуры необходимо не менее 1 мл цельной крови. Для получения оптимальных результатов необходимо выполнять окрашивание образцов крови не позднее, чем через 6 часов после забора. Кровь с антикоагулянтом можно хранить перед окрашиванием не дольше

6 часов при комнатной температуре (от 20 до 25 °C). Охлаждение образцов крови перед окрашиванием может приводить к получению искаженных результатов.

Перед окрашиванием необходимо получить результаты подсчета лейкоцитов и дифференциального подсчета лейкоцитов для того же образца цельной крови. BD Simultest Leucogate может использоваться для анализа образцов с концентрацией лейкоцитов в диапазоне, который допускается реагентами BD для диагностики *in vitro*. Информацию о диапазоне концентраций лейкоцитов, который допускается для анализа с использованием реагента для иммунофенотипирования, см. в инструкции-вкладыше упаковки соответствующего реагента BD для диагностики *in vitro*. Для анализа образцов с результатом подсчета, выходящим за нижнюю границу диапазона, может потребоваться большее количество крови, а также выполнение процедуры разделения для повышения концентрации клеток. Образцы с содержанием лейкоцитов, превышающим верхнюю границу диапазона, возможно, будет необходимо разбавить однократным фосфатно-солевым буфером, содержащим 0,1 % азида натрия.

Мешающие факторы

Не следует использовать ранее зафиксированные и хранившиеся образцы. Охлаждение образцов цельной крови перед окрашиванием может приводить к получению искаженных результатов. Для получения оптимальных результатов необходимо выполнять окрашивание образцов крови не позднее чем через 6 часов после венепункции. Образцы, полученные от пациентов, принимающих иммунодепрессанты, могут привести к низкому разрешению.¹³ Присутствие

бластных клеток, а также ядросодержащих или нелизированных эритроцитов, может отрицательно влиять на результаты анализа. Не использовать гемолизированные образцы. Минимальное количество отбираемой крови указано в рекомендациях производителя пробирки для забора образца.

ВНИМАНИЕ! При заборе, обращении и утилизации всех образцов крови человека, а также реагентов, потенциально обладающих канцерогенным действием, необходимо соблюдать соответствующие меры предосторожности.

7. ПРОЦЕДУРА

Поставляемые реагенты

См. «Поставляемые реагенты» и «Меры предосторожности» в разделе 4 «Реагенты».

Необходимые реагенты и материалы, не входящие в комплект поставки

- Контроль BD Simultest Control.
- Соответствующий реагент для иммунофенотипирования.
- Лизирующий раствор BD FACS™ Lysing Solution (10-кратный) (BD кат. № 349202). Инструкции по разбавлению и предупреждения см. в инструкции-вкладыше упаковки.
- Пробирки для забора крови BD Vacutainer с EDTA-K₃ или эквивалентные.
- Калибровочные частицы BD Calibrite™ beads (BD кат. № 349502). Подробная информация по использованию приведена в инструкции-вкладыше.
- Одноразовые полистироловые пробирки с крышками BD Falcon™ 12 x 75 мм (BD кат. № 352058) или эквивалентные.

- Вихревая мешалка «вортекс».
- Низкоскоростная центрифуга (200 g) с горизонтальным ротором и вставками для пробирок 12 x 75 мм.
- Вакуумный аспиратор с ловушкой.
- Дозатор с наконечниками (электронная пипетка BD Electronic Pipette, BD кат. № 646539, или эквивалентная).
- Фосфатно-солевой буфер (PBS), однократный (модифицированный раствор Дюльбекко, pH $7,2 \pm 0,2$; 0,01 моль/л PO_4 ; и 0,15 моль/л NaCl).¹⁴ Этот реагент не содержит кальций, магний, феноловый красный и азид натрия. Перед использованием PBS необходимо отфильтровать через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм. Хранить при температуре от 2 до 8 °C.
- PBS, как в пункте выше, с 0,1 % азида натрия.
- Проточная жидкость.
- Параформальдегид (1 %) для фиксации клеток. Растворите 1 г параформальдегида в 100 мл свежеприготовленного PBS, осторожно нагревая смесь до температуры не выше 56 °C в вытяжном шкафу. Доведите pH до $7,4 \pm 0,2$ с помощью NaOH (0,1 моль/л) или HCl (0,1 моль/л). Отфильтруйте через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм. Хранить в стеклянной таре при температуре от 2 до 8 °C.

ОСТОРОЖНО!

Формальдегид представляет опасность при вдыхании, контакте с кожей и при попадании внутрь (R20/21/22). Он обладает раздражающим действием на глаза и кожу (R36/38). При продолжительном воздействии возможно развитие злокачественных новообразований.

Возможный риск необратимых эффектов (R68). Может вызывать сенсибилизацию при контакте с кожей (R43). Хранить в закрытом, недоступном для детей месте (S1/2). Использовать надлежащую защитную одежду и перчатки (S36/37). При попадании внутрь немедленно обратитесь за медицинской помощью и покажите упаковку или этикетку (S46). Утилизировать согласно федеральным, государственным и местным постановлениям.

- Чистая вода (дистиллированная или деионизированная).

Окрашивание и фиксация клеток

Образцы цельной крови вначале окрашиваются реагентами BD Simultest Leucogate (пробирка A), BD Simultest Control (пробирка B) и соответствующим реагентом BD для иммунофенотипирования лимфоцитов (пробирка C). После окрашивания образцы обрабатываются разбавленным однократным BD FACS Lysing Solution для лизиса эритроцитов. Защищайте пробирки от попадания прямого света. Выполнять процедуру следует при комнатной температуре (от 20 до 25 °C), используя реагенты с такой же температурой. См. «Меры предосторожности» в разделе 4 «Реагенты».

1. Промаркируйте по три пробирки 12 x 75 мм для каждого образца пациента (A, B и C). Если в панели анализа используются другие реагенты, промаркируйте дополнительные пробирки соответствующим образом. На каждой пробирке также укажите идентификационный номер образца.
2. Внесите в пробирку A 20 мкл BD Simultest Leucogate reagent, в пробирку B — 20 мкл BD Simultest

- Control, в пробирку С — 20 мкл соответствующего реагента для иммунофенотипирования, и в последующие пробирки — по 20 мкл реагентов для иммунофенотипирования, которые используются в панели.
3. Используя для каждого образца пациента новый наконечник дозатора, аккуратно добавьте на дно каждой из промаркированных пробирок по 100 мкл хорошо перемешанного образца цельной крови соответствующей концентрации с антикоагулянтом. Примите меры для предотвращения стекания крови по стенке пробирки. Тщательно перемешайте содержимое на вортексе на низких оборотах в течение 3 секунд и инкубируйте в течение 15—30 минут при комнатной температуре.
- ПРИМЕЧАНИЕ.** В ходе инкубации образцы необходимо защищать от прямого воздействия света, а также принять меры для предотвращения стекания крови по стенке пробирки. Если цельная кровь остается на стенке пробирки, она может не окраситься реагентом.
4. Добавьте в каждую пробирку по 2 мл однократного BD FACS Lysing Solution комнатной температуры. Сразу же тщательно перемешайте содержимое на вортексе на низких оборотах в течение 3 секунд и инкубируйте в течение 10—12 минут при комнатной температуре в темноте. Не инкубируйте дольше 12 минут.
- ПРИМЕЧАНИЕ.** Не допускайте излишне продолжительного воздействия лизирующих реагентов на клетки, так как это может привести к разрушению лейкоцитов.
5. Сразу после инкубации центрифугируйте пробирки в течение 5 минут при 300 x g и комнатной температуре.
6. Аспирируйте супернатант, оставив в каждой пробирке приблизительно 50 мкл жидкости, чтобы не повредить клеточный осадок.
7. Тщательно перемешайте на вортексе на низких оборотах для ресуспендирования клеточного осадка в остаточной жидкости, после чего добавьте в каждую пробирку 2 мл PBS с 0,1 % азида натрия. Тщательно перемешайте в течение 3 секунд на вортексе с низкой скоростью. Центрифугируйте в течение 5 минут при 200 x g и комнатной температуре.
8. Аспирируйте супернатант, оставив в каждой пробирке приблизительно 50 мкл жидкости, чтобы не повредить осадок.
9. Тщательно перемешайте на вортексе с низкой скоростью, чтобы вновь суспендировать клеточный осадок в остаточной жидкости, после чего добавьте в каждую пробирку по 0,5 мл 1 % раствора параформальдегида. Тщательно перемешайте в течение 3 секунд на вортексе с низкой скоростью. Удостоверьтесь в том, что клетки хорошо перемешались с фиксирующим раствором.
10. Теперь клетки готовы для анализа в проточном цитометре. Наденьте крышки или покройте подготовленные пробирки и храните их в темноте при температуре от 2 до 8 °C до анализа в проточном цитометре. Анализ фиксированных клеток необходимо выполнить не позднее чем через 24 часа после окрашивания.

Для уменьшения агрегации перед запуском в проточный цитометр тщательно перемешайте клетки на вортексе на малой скорости.¹⁴

Проточная цитометрия

Следуйте инструкциям компании BD по проведению анализа методом двухцветной проточной цитометрии.

Информацию о пробирках В и С см. в соответствующих инструкциях-вкладышах упаковки реагентов для диагностики *in vitro*.

Контроль качества

Для получения оптимальных результатов компания BD рекомендует перед использованием реагентов BD Simulset для выполнения анализа в проточном цитометре BD FACScan или BD FACStrak установить напряжения фотоумножителей, настроить компенсацию флуоресценции и проверить чувствительность прибора с помощью BD Calibrite beads и программного обеспечения BD AutoCOMP™ software или BD FACSComp™ software.

Компания BD рекомендует ежедневно анализировать в качестве контроля образец крови здорового взрослого донора с целью оптимизации настроек прибора и контроля качества работы системы. Правильные результаты анализа пациента с нормальными гематологическими характеристиками представлены на рис. 1.

BD Simulset software автоматически проанализирует данные и отобразит соответствующее количество предупреждающих сообщений об ошибках. Список возможных сообщений приведен в *Руководстве пользователя BD Simulset software*. С целью оценки качества полученных данных программа будет использовать следующие критерии

при анализе точечных графиков для каждого образца.

- Оператор должен отклонить результаты, если для анализа нормального контроля отображается какое-либо из следующих сообщений об ошибках: «no separation between cellular populations» (клеточные популяции не разделены); «too few lymphocytes (less than 500)» (недостаточное количество лимфоцитов, менее 500); «excessive RBC or nucleated RBC contamination and debris (greater than 10%)» (чрезмерная контаминация эритроцитами/ядросодержащими эритроцитами и дебрисом, более 10 %); «excessive monocyte (greater than 3%)» (чрезмерная контаминация моноцитами, более 3 %) или «granulocyte (greater than 6%) contamination of the lymphocyte gate» (чрезмерная контаминация гейта лимфоцитов гранулоцитами, более 6 %).
- В случае отсутствия каких-либо явных причин неудачи анализа нормального контроля следует еще раз выполнить окрашивание и анализ другого образца нормального контроля и повторить процедуру окрашивания для всех последующих образцов.
- Образцы с ядросодержащими эритроцитами могут содержать слишком много дебриса вследствие неполного лизирования ядросодержащих эритроцитов BD FACS Lysing Solution. Избыток дебриса также может наблюдаться при анализе образцов крови пациентов с определенными гематологическими заболеваниями, при которых лизирование эритроцитов затруднено, например при миелофиброзе или сфероцитозе. Ядросодержащие эритроциты будут подсчитаны как дебрис и, если уровень дебриса

превысит 10 %, программа отметит образец флагом «too many nonlymphs in gate» (чрезмерное количество нелимфоцитарных элементов в гейте) и результаты этого анализа будут необходимо отклонить.

8. РЕЗУЛЬТАТЫ

Пересчет удельного веса лимфоцитов

Если выполнен пересчет удельного веса лимфоцитов, субпопуляция лимфоцитов, выявленная реагентом для диагностического иммунофенотипирования *in vitro*, будет представлена как удельный вес лимфоцитов в пределах гейта анализа лимфоцитов. Если пересчет не выполнен, результаты будут представлены как процентные доли гейтированных событий.

9. ОГРАНИЧЕНИЯ

Дифференциальный подсчет трех фракций

В лизированной цельной крови с помощью BD Simultest Leucogate reagent (пробирка A) можно определять удельный вес моноцитов, лимфоцитов и гранулоцитов в общем количестве лейкоцитов. BD Simulset software автоматически выполняет дифференциальный подсчет трех фракций. Примеры распечатки данных приведены в *Руководстве пользователя BD Simulset software*.

ПРИМЕЧАНИЕ. Не используйте лейкоцитарную формулу, полученную из отчета BD Simulset software, для расчета абсолютных количеств. Получаемые BD Simulset software результаты дифференциального подсчета следует использовать исключительно для сравнения с результатами независимого лабораторного подсчета количества лейкоцитов в целях контроля качества.

Их не следует использовать вместо результатов независимого лабораторного дифференциального подсчета количества лейкоцитов в картах пациентов или вводить в BD Simulset software программу для получения абсолютных количеств.

- Вариации настройки гейта как для автоматического, так и ручного анализа лимфоцитов, могут изменить относительные количества анализируемых субпопуляций. BD Simulset software использует пробирку BD Leucogate для установки гейта анализа лимфоцитов, который пропускает не менее 95 % общего количества лимфоцитов в образце. Для утверждения выполненной установки гейта требуется визуальная проверка.
- BD Simulset Leucogate reagent не предназначен для скрининга образцов на наличие лейкозных клеток или для использования с образцами для фенотипирования пациентов, больных лейкозией. Присутствие бластных клеток может помешать правильно установить гейт анализа лимфоцитов с помощью реагента Leucogate. Программа отметит такой образец флагом и не будет печатать его результаты.
- Способность проточного цитометра отделить лимфоциты и удалить тромбоциты, эритроциты, дебрис, гранулоциты и моноциты из гейта лимфоцитов зависит от четкости разделения между этими форменными элементами и лимфоцитами на экране при прямом светорассеянии по сравнению с боковым. При анализе образцов некоторых пациентов эти границы получаются нечеткими и гейтирование лейкоцитов будет менее эффективным.

10. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики BD Simultest Leucogate reagent и других реагентов BD для иммунофенотипирования лимфоцитов см. в инструкциях-вкладышах упаковки соответствующих реагентов для диагностики *in vitro*.

Перекрестная реактивность

CD14 слабо реагирует с гранулоцитами, моноцитами и макрофагами.¹⁵ Насколько известно, антитело CD45 слабо вступает в реакцию со зрелыми циркулирующими эритроцитами и тромбоцитами.^{8, 16}

Линейность и выход

Линейность отклика определялась в широком диапазоне концентраций лейкоцитов для каждого реагента BD для диагностического иммунофенотипирования *in vitro* с использованием в анализе BD Leucogate. Информацию о допустимом диапазоне концентрации лейкоцитов см. в инструкции-вкладыше упаковки соответствующего реагента BD.

ГАРАНТИЯ

Если иное не оговорено в каких-либо действующих общих условиях продаж компании BD для клиентов за пределами США, на приобретение данных продуктов распространяются следующие гарантийные обязательства.

Для продаваемых согласно данным условиям продуктов гарантируется только соблюдение количества и содержимого, указанных на этикетке или маркировке продукта на момент доставки заказчику. Компания BD настоящим отвергает любые другие гарантии, явные или подразумеваемые, включая гарантии коммерческой выгоды, пригодности для конкретных целей и ненарушения прав третьих сторон. 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.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Loken M, Brosnan J, Bach B, Ault K. Establishing optimal lymphocyte gates for immunophenotyping by flow cytometry. *Cytometry*. 1990;11:453-459.
2. Beverley P. Production and use of monoclonal antibodies in transplantation immunology. In: Touraine J, Trager J, Betuel H, eds. *Transplantation and Clinical Immunology XI*. Amsterdam: Excerpta Medica; 1980:87-94.
3. Cobbold S, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael A, ed. *Leucocyte Typing III: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1986:788-803.
4. Rowe D, Beverley P. Characterisation of breast cancer infiltrates using monoclonal antibodies to human leucocyte antigens. *Br J Cancer*. 1984;49:149-159.
5. Bernard A, Boumsell L, Hill C. Joint report of the First International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens by the investigators of the participating laboratories: M2 protocol. In: Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman S, eds. *Leucocyte Typing*. Berlin: Springer-Verlag; 1984:82-108.
6. Dimitriu-Bona A, Burmester G, Waters S, Winchester R. Human mononuclear phagocyte differentiation antigens. I. Patterns of antigenic expression on the surface of human monocytes and macrophages defined by monoclonal antibodies. *J Immunol*. 1983;130:145-152.
7. Herrmann F, Komischke B, Odenwald E, Ludwig W. Use of monoclonal antibodies as a diagnostic tool in human leukemia. I. Acute myeloid leukemia and acute phase of chronic myeloid leukemia. *Blut*. 1983;47:157-163.
8. Schwinzer R. Cluster report: CD45/CD45R. In: Knapp W, Durken B, Gilks WR, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:628-634.
9. Goyert S, Tesio L, Ashman L, et al. Report on the CD14 Cluster Workshop. In: Knapp W, Durken B, Gilks WR, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:789-794.
10. Bernstein I, Self S. Joint report of the myeloid section of the Second International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens. In: Reinherz E, Haynes B, Nadler L, Bernstein I, eds. *Leucocyte Typing IV: Human Myeloid and Hematopoietic Cells*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:1-25.
11. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture—Fourth Edition; Approved Standard*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1998. NCCLS document H3-A4.

12. *Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Peripheral Blood Lymphocytes; Tentative Guideline*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1992. NCCLS document H42-T.
13. 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.
14. Jackson A, Warner N. Preparation, staining, and analysis by flow cytometry of peripheral blood leukocytes. In: Rose N, Friedman H, Fahey J, eds. *Manual of Clinical Laboratory Immunology*. 3rd ed. Washington, DC: American Society for Microbiology; 1986:226-235.
15. Jayaram Y, Hogg N. Surface expression of CD14 molecules on human neutrophils. In: Knapp W, Durken B, Gilks W, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:796-797.
16. Jackson A. Basic phenotyping of lymphocytes: selection and testing of reagents and interpretation of data. *Clin Immunol Newslett*. 1990;10:49-55.