



BD Tritest CD3 FITC/ CD4 PE/CD45 PerCP

Reagent

50 тестов на флакон — **кат. № 342413**

50 тестов на флакон с пробирками

BD Trucount — **кат. № 342444**

Для определения процентных долей и абсолютных количеств всех Т-лимфоцитов и Т-хелперов/индукторов человека в цельной крови с лизированными эритроцитами.

1/2010

23-13682-02



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™ — меченые флуоресцеина изотиоцианатом (FITC) антитела к антигену CD3/меченые фикоэритрином (PE) антитела к CD4/меченые пиридинин-хлорофилл протеином* (PerCP) антитела к CD45 — представляет собой реагент для прямой трехцветной иммунофлуоресценции, который предназначен для использования в соответствующим образом оснащенном проточном цитометре с целью идентификации и определения (в цельной крови с лизированными эритроцитами) процентных долей и абсолютных количеств субпопуляций зрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺) и Т-хелперов/индукторов (CD3⁺CD4⁺) человека. При использовании с пробирками BD Trucount™ абсолютные количества клеток этих популяций могут быть подсчитаны в одной пробирке.

Реагент BD Tritest и пробирки BD Trucount могут использоваться с BD FACSTM Loader. Этот реагент можно использовать как с контролем изотипа, так и без него.

2. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ И ПОЯСНЕНИЯ

Лимфоциты человека можно разделить на три основные популяции согласно их биологической функции и экспрессии поверхностного антигена: Т-лимфоциты, В-лимфоциты и естественные киллеры (НК-лимфоциты).

Клиническое применение

Лимфоциты-хелперы/индукторы — это субпопуляция Т-лимфоцитов (CD3⁺), экспрессирующих антиген CD4⁺. Процентные доли и абсолютные количества лимфоцитов CD3⁺CD4⁺ используются для оценки и мониторинга некоторых форм иммунодефицита^{1—3}

* Патенты — PerCP: США 4 876 190.

и аутоиммунных заболеваний.^{4, 5} Определение процентных долей или количеств Т-хелперов/индукторов используется при мониторинге состояния лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ).⁶ При прогрессировании инфекции пациенты с ВИЧ, как правило, показывают устойчивое снижение количества Т-хелперов/индукторов.⁷

Для определения процентной доли субпопуляции CD4⁺ Т-лимфоцитов у ВИЧ-инфицированных пациентов Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (CDC) рекомендуется использовать комбинации реагентов, содержащие антитела к антигенам CD3 и CD4.⁸ Реагент BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent позволяет идентифицировать и подсчитать количество Т-хелперов/индукторов отдельно от примеси CD3-CD4⁺ моноцитов.^{9—11}

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 рассеяния и флуоресценции, обнаруженные прибором, предоставляют информацию о размере клетки, внутренней сложности и относительной интенсивности флуоресценции. Реагенты BD Tritest используют активацию флуоресценции, делая возможным гейтирование прямой флуоресценции популяции лимфоцитов^{9—11} с целью снижения количества проникновений нелизированных или ядросодержащих эритроцитов в гейт.

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

4. РЕАГЕНТ

В комплекте реагент, достаточный для проведения 50 анализов

BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent поставляется в 1 мл буферного солевого раствора, содержащего бычий сывороточный альбумин и 0,1 % азида натрия. Реагент содержит меченые FITC антитела к антигену CD3 (клон SK7),^{12—14} меченые PE антитела к CD4 (клон SK3)^{15—17} и меченые PerCP антитела к CD45 (клон 2D1 (HLe-1)).¹⁸

Антитела к CD3 идентифицируют Т-лимфоциты и распознают эпислон-цепь комплекса рецептора антигена CD3/Т-клеточного антигена (ТкР).¹⁹ Этот комплекс состоит из не менее чем шести белков с молекулярной массой от 20 до 30 килодальтон (кДа).²⁰ Антиген, распознаваемый антителами к CD3,

нековалентно связан с α/β или γ/δ субъединицами ТкР (от 70 до 90 кДа).²¹

Антитела к CD4 идентифицируют Т-хелперы/индукторы и распознают антиген CD4 с молекулярной массой 55 кДа,²² который взаимодействует с молекулами белков главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) класса II и является основным рецептором для ВИЧ.^{23, 24} Цитоплазматический участок этого антигена связан с протеин-тирозинкиназой p56^{lck}.²⁵

Антитела к CD45 идентифицируют лейкоциты и распознают лейкоцитарный антиген человека с молекулярной массой от 180 до 220 кДа, который принадлежит к семейству общих лейкоцитарных антигенов (LCA).²⁶

Антитела к CD3, CD4 и CD45 состоят из тяжелых цепей γ_1 и легких каппа-цепей иммуноглобулина мыши.

Каждая пробирка BD Trucount содержит лиофилизированные гранулы флуоресцентных частиц для однократового использования. В каждом пакете BD Trucount содержится 25 пробирок, чего достаточно для проведения 25 анализов.

Меры предосторожности

- Для диагностики *in vitro*.
- Не использовать реагент, если наблюдаются какие-либо изменения внешнего вида. Осадок или обесцвечивание свидетельствуют о нестабильности или порче.
- Хотя реагент антител содержит азид натрия в качестве консерванта, следует принимать меры для исключения микробного загрязнения, которое может приводить к ошибочным результатам.

ОСТОРОЖНО! Азид натрия вреден при приеме внутрь (R22). 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!** Все биологические образцы и контактирующие с ними материалы рассматриваются как биологически опасные. Они подлежат обращению как с потенциальным источником инфицирования^{27, 28} 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.²⁹
- Необходим лизирующий раствор BD FACST[™] Lysing Solution*, содержащий диэтиленгликоль и формальдегид. Предупреждения см. в инструкции-вкладыше упаковки изделия.
- Для получения точных результатов при использовании пробирок BD Trucount критически важным является внесение точного объема крови. Откалибруйте пипетку, чтобы

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

добавлять ровно 50 мкл образца, либо используйте технику обратного пипетирования (краткое описание см. в шаг 3 на стр. 6). Для получения дополнительной информации см. инструкцию производителя пипетки.

- Содержание частиц в пробирках BD Trucount разное для каждой партии. Критически важным при введении значения содержания частиц в программное обеспечение или ручном подсчете абсолютного количества является использование значения, которое указано на текущей партии пробирок BD Trucount. Не используйте пробирки из разных партий при проведении одного анализа.
- BD Trucount разработаны для использования со специфичной процедурой лизирования без промывки. Для сбора данных не пытайтесь преодолеть порог прямого рассеяния (FSC).

Хранение и обращение

- Реагент следует хранить при температуре 2—8 °C. Не использовать после даты истечения срока годности, которая указана на этикетке.
- Реагент не замораживать и не подвергать воздействию прямого солнечного света при хранении или инкубации с клетками. Пробирка с реагентом должна оставаться сухой.
- Пробирки BD Trucount следует хранить в оригинальном пакете из полимерной пленки при температуре от 2 до 25 °C. Во избежание конденсации пакет следует открывать только после достижения им комнатной температуры и тщательно запечатывать сразу после извлечения пробирки. Проверяйте влагопоглотитель при каждом открывании пакета. Если влагопоглотитель изменил цвет

с голубого на бледно-лиловый, утилизируйте оставшиеся пробирки. Закрытый пакет стабилен до даты истечения срока годности, которая указана на упаковке. После истечения срока годности не открывать и не использовать. Пробирки использовать в течение 1 часа после извлечения из пакета. Оставшиеся пробирки использовать в течение 1 месяца после вскрытия пакета.

5. ПРИБОР

Реагент BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent и пробирки BD Trucount предназначены для использования с проточным цитометром, оснащенным соответствующими аппаратными средствами и программным обеспечением. Компания BD рекомендует проточные цитометры BD FACSCalibur™, BD FACSort™ и BD FACScan™, однако можно использовать и другие платформы. Проточный цитометр должен быть оснащен лазером с длиной волны 488 нм и детекторами светорассеяния (прямого и бокового) и трехцветной флуоресценции в 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 BD FACS Loader.

Для настройки напряжений фотоэлектронного умножителя (ФЭУ), компенсации флуоресценции, а также проверки чувствительности прибора перед его применением, используйте частицы BD Calibrite™ Beads и программное обеспечение BD FACSComp™ версии 2.0 или более поздней. Пользователям проточных цитометров производства других

компаний (кроме BD) следует обратиться к инструкции производителя по настройке трехцветного иммунофенотипирования.

В компании BD разработано программное обеспечение, такое как BD Multiset, автоматически рассчитывающее абсолютные значения при использовании пробирок BD 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

Соблюдая правила асептики, произведите забор крови из вены^{30, 31} в стерильную вакуумную пробирку BD Vacutainer™ с EDTA (этилендиаминтетрауксусной кислотой). Reagent BD Tritest CD3/CD4/CD45 и пробирки BD Trucount проверены как с жидкой, так и с сухой формой EDTA. Для анализа необходимо не менее 100 мкл цельной крови. Соблюдайте инструкции производителя пробирки для взятия крови в отношении минимального объема крови, который необходимо взять, чтобы обеспечить нужное разбавление образца, особенно при определении абсолютного количества с использованием частиц BD 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. п. «Линейность» на page 10) или чтобы посчитать абсолютные значения по процентным долям.

Кровь с антикоагулянтом, которая хранится при комнатной температуре (от 20 до 25 °C), необходимо окрашивать в

пределах 72 часов после забора и анализировать в пределах 6 часов после окрашивания. Если образцы были окрашены в пределах 24 часов после забора, их можно анализировать в пределах 24 часов после окрашивания.

Мешающие факторы

Не используйте ранее зафиксированные и хранившиеся образцы от пациентов. Образцы крови, охлажденные перед окрашиванием, могут давать искаженные результаты. Образцы, полученные от пациентов, принимающих иммунодепрессанты могут давать плохое разрешение.³² Бластные клетки могут влиять на результаты анализа. Следует отказаться от использования гемолизированных образцов.

7. ПРОЦЕДУРА

Поставляемый реагент

- BD Tritest CD3 FITC/CD4 PE/CD45 PerCP (BD кат. № 342413), или
- BD Tritest CD3 FITC/CD4 PE/CD45 PerCP с пробирками BD Trucount (BD кат. № 342444).

Необходимые реагенты и материалы, не входящие в комплект

- Частицы BD Calibrite 3 (BD кат. № 340486).
- BD FACS Lysing Solution (10-кратный), 100 мл (BD кат. № 349202).

Инструкции по разбавлению и предупреждения см. в инструкции-вкладыше упаковки.

- Химически чистая вода (дистиллированная или деионизированная).
- Пробирки для забора крови BD Vacutainer с EDTA.
- Одноразовые полистироловые пробирки BD Falcon™ с крышками

12 x 75 мм (BD кат. № 352058) или эквивалентные (если не используются пробирки BD Trucount).

- Вихревая мешалка «вортекс».
- Дозатор с наконечниками.
- Дозатор масс или пипеточный дозатор для дозирования 450 μ л BD FACS Lysing Solution.
- Проточная жидкость BD FACSTTM (BD кат. № 340398 для США и Латинской Америки или 342003 или эквивалентная).
- Контрольные образцы BD Trucount (BD кат. № 340335), необходимы при использовании пробирок BD Trucount.
- Контрольный образец лизируемой цельной крови (коммерчески доступный).

Окрашивание клеток

Реагенты BD Tritest можно использовать как с контролем изотипа для оценки уровня антиген-неспецифического связывания антител, так и без него. Если необходимо использовать контроль, доступен реагент для контроля изотипа BD Tritest γ_1/γ_1 /CD45 (BD кат. № 342415).

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 BD Trucount.

ПРИМЕЧАНИЕ. Перед использованием следует удостовериться в том, что осадок частиц BD Trucount интактен и находится в металлической сеточке на дне пробирки. Если это не так, утилизируйте пробирку BD Trucount и используйте новую. Не переносите частицы в другую пробирку.

2. Внесите пипеткой 20 μ л реагента BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent на дно пробирки.

При использовании пробирок BD Trucount внесите чуть выше сеточки из нержавеющей стали. Не прикасайтесь к осадку.

3. Внесите 50 μ л хорошо перемешанной цельной крови с антикоагулянтом в нижнюю часть пробирки.

ПРИМЕЧАНИЕ. Не допускайте растекания крови по стенкам пробирки. Если цельная кровь останется на стенках пробирки, она не будет окрашена реагентом, что может повлиять на результаты.

Аккуратное внесение особенно важно при использовании пробирки BD Trucount. Используйте технику обратного пипетирования для внесения образца на стенку пробирки чуть выше сеточки.

Для обратного пипетирования нажмите кнопку дозатора до второго упора. После отпускания кнопки образец поступает в наконечник с избытком. Нажмите кнопку до первого упора, чтобы выдать точный объем образца. Избыток образца останется в наконечнике.

4. Закройте пробирку и аккуратно перемешайте на вортексе. Инкубируйте в течение 15 минут в темноте при комнатной температуре (от 20 до 25 °C).
5. Добавьте в пробирку 450 мкл однократного BD FACS Lysing Solution.
6. Закройте пробирку и аккуратно перемешайте на вортексе.
7. Инкубируйте в течение 15 минут в темноте при комнатной температуре (от 20 до 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 (от 20 до 25 °C).

Для уменьшения агрегации, прежде чем вводить клетки в проточный цитометр, тщательно перемешайте их на вортексе на малой скорости.³³ При использовании BD FACS Loader перемешайте содержимое пробирок на вортексе непосредственно перед их размещением в подставки загрузчика. Соберите и проанализируйте данные в режиме списка с помощью соответствующего программного обеспечения, такого как BD CellQuest или BD 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 от здорового взрослого донора или коммерческого контрольного образца цельной крови для оптимизации настроек прибора и в целях контроля качества системы.³¹ Реагент для контроля изотипа BD Tritest является дополнительным средством установки маркеров флуоресценции для выявления неспецифического окрашивания.

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

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 либо очень слабое.

На рис. 1, 2 и 3 (page 7 и 8) изображены репрезентативные данные гематологически нормального образца взрослого человека, окрашенного BD Tritest CD3/CD4/CD45 в пробирке BD Trucount.

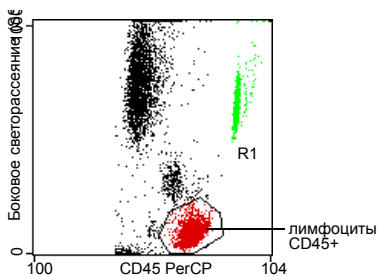


Рис. 1. Точечная диаграмма CD45 и SSC без гейтирования

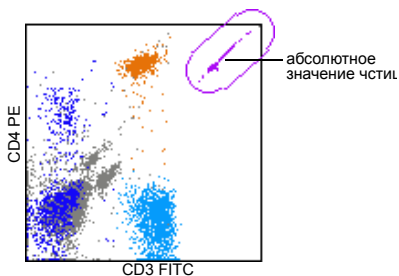


Рис. 2. Точечная диаграмма CD3 и CD4 без гейтирования

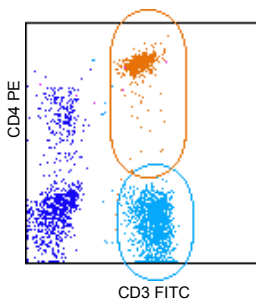


Рис. 3. Точечная диаграмма CD3 и CD4 с гейтированием лимфоцитов

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 программного обеспечения BD Multiset абсолютные значения рассчитываются автоматически.

При анализе данных вручную с использованием BD CellQuest или другого программного обеспечения необходимо разделить количество подсчитанных положительных клеток на количество подсчитанных частиц, а затем умножить на концентрацию частиц BD Trucount.

$$\frac{\text{частота событий в популяции клеток}}{\text{частота встречаемости в области абсолютного значения частиц}} \times \frac{\text{кол-во частиц/тест*}}{\text{тестируемый объем}} = \frac{\text{абсолютное количество клеток}}{\text{популяция}}$$

* Это значение указано на этикетке пакета с пробирками BD Trucount и в различных партиях может варьироваться.

9. ОГРАНИЧЕНИЯ

- Лаборатории должны устанавливать свои собственные диапазоны нормальных значений параметров BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent, на которые могут оказывать влияние пол пациента, его возраст и процедура подготовки образца. Расовая принадлежность пациента³⁴ и индивидуальные вариации экспрессии эритроцитов³⁵ также могут оказывать влияние, хотя в настоящее время недостаточно данных для подтверждения данного факта. Возраст, пол, клиническое состояние и расовая принадлежность пациента должны быть известны при определении диапазона нормальных значений.³⁶ Указанные диапазоны нормальных значений носят только информационный характер.
- BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent не проверен для использования с жидкими антикоагулянтами гепарином и ACD (кислота-цитрат-декстроза) при расчете абсолютных значений с использованием пробирок BD Trucount.
- BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent не предназначен для скрининга образцов на наличие лейкозных клеток или для использования с образцами для фенотипирования пациентов, больных лейкозией.
- Абсолютные значения различны в лабораториях, использующих оборудование разных производителей.

10. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Нормальные диапазоны

Диапазоны нормальных значений для BD Tritest CD3/CD4/CD45, которые представлены в табл. 1, определялись в лабораториях компании BD Biosciences (Сан-Хосе, штат Калифорния, США)

и четырех медицинских 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.

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 1 раздела «Ограничения» на page 8.

11. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

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

Табл. 1. Репрезентативные нормальные диапазоны параметров BD Tritest CD3/CD4/CD45 для взрослых доноров с нормальными гематологическими характеристиками

Субпопуляция	n	Среднее значение	Нижний процентиль 2,5	Верхний процентиль 97,5
Т-хелперы/индукторы (%)	523	45	31	60
Всего Т-лимфоцитов (%)	516	72	55	84
Т-хелперы/индукторы (клеток/???л) ^а	523	880	410	1590
Всего Т-лимфоцитов (клеток/???л) ^а	516	1410	690	2540

а. Абсолютные значения, округленные до ближайших 10 клеток/???л.

Точность

Результаты расчета процентных долей субпопуляций лимфоцитов, полученные с помощью BD Tritest CD3/CD4/CD45 reagent, сравнивались с результатами, полученными с использованием BD Simultest™ CD3/CD4. Абсолютные значения сравнивались с результатами, полученными с помощью прибора BD FACSCount™.

Анализировались аликвоты одних и тех же образцов здоровых доноров и пациентов с патологией. Статистика регрессии, представленная в табл. 2, показывает практически эквивалентные результаты.

Табл. 2. Перрессионный анализ

Субпопуляция	n	Наклон	Точка пересечения с осью ординат	R	Диапазон
Т-хелперы/индукторы (%)	168	0,98	0,6 %, положительно	0,99	1—78
Всего Т-лимфоцитов (%)	168	0,92	5,7 %, положительно	0,96	24—95
Т-хелперы/индукторы (клеток/???л)	199	1,04	1 клетка/???л	0,99	0—1880 ^а
Всего Т-лимфоцитов (клеток/???л)	197	1,03	-7 клеток/???л	0,99	120—2860 ^а

а. Абсолютные значения, округленные до ближайших 10 клеток/???л.

Воспроизводимость для одного образца

Оценивалось 10 аликвот этих образцов, представляющих высокое, среднее и низкое количество CD4. % положительных результатов составил (SD = стандартное отклонение):

- % CD3: среднее = 70, сводное SD = 0,7
- % CD4: среднее = 47, сводное SD = 0,9

Результаты подсчета абсолютных значений представлены в табл. 3.

Табл. 3. Воспроизводимость для одного образца при использовании реагента BD Tritest CD3/CD4/CD45

Субпопуляция	Уровень	Среднее значение	% CV
Т-хелперы/индукторы (клеток/??л)	Высокий	2034	4,2
	Средний	1352	3,9
	Низкий	371	7,1
Всего Т-лимфоцитов (клеток/??л)	Высокий	2716	4,4
	Средний	1897	4,1
	Низкий	704	7,0

Стабильность

Было проведено исследование стабильности рабочих характеристик реагента BD Tritest во времени относительно спецификаций. В процессе исследования измерялись:

- 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 этого исследования,* мы рекомендуем выполнять окрашивание образцов в пределах 72 часов

после забора и анализировать образцы в пределах 6 часов после окрашивания; или окрашивать образцы в пределах 24 часов после забора и анализировать их в пределах 24 часов после окрашивания.

Перекрестная реактивность

Антитела к CD4 реагируют с моноцитами, а также Т-хелперами/индукторами.¹⁷

Линейность

Линейность оценивалась в диапазоне концентраций лейкоцитов от $2,5 \times 10^3$ до $31,0 \times 10^3$ клеток/??л и концентрации лимфоцитов от $2,0 \times 10^2$ до $16,7 \times 10^3$ клеток/??л. Линейность полученных результатов наблюдалась в пределах диапазонов CD3+CD4⁺ от 68 до $7,2 \times 10^3$ клеток/мкл и CD3⁺ от 123 до $1,1 \times 10^4$ клеток/??л.

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. НАСТОЯЩИМ КОМПАНИЯ BD ОТВЕРГАЕТ ЛЮБЫЕ ДРУГИЕ ГАРАНТИИ, ЯВНЫЕ ИЛИ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ, ВКЛЮЧАЯ ГАРАНТИИ КОММЕРЧЕСКОЙ ВЫГОДЫ И ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ КОНКРЕТНЫХ ЦЕЛЕЙ. ВСЯ ОТВЕТСТВЕННОСТЬ КОМПАНИИ BD ОГРАНИЧИВАЕТСЯ ЛИБО ЗАМЕНОЙ ПРОДУКТОВ, ЛИБО ВОЗМЕЩЕНИЕМ ПОКУПАТЕЛЮ ЦЕНЫ ПОКУПКИ. КОМПАНИЯ BD НЕ НЕСЕТ ОТВЕТСТВЕННОСТИ ЗА ПОВРЕЖДЕНИЕ ИМУЩЕСТВА ИЛИ ЛЮБОЙ СОПУТСТВУЮЩИЙ ИЛИ КОСВЕННЫЙ УЩЕРБ, ВКЛЮЧАЯ ЛИЧНЫЕ ТРАВМЫ И ЭКОНОМИЧЕСКИЕ УБЫТКИ, ВЫЗВАННЫЕ ДАННЫМ ПРОДУКТОМ.

* Соответствующие данные можно получить 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.
- Giorgi JV, Hultin LE. Lymphocyte subset alterations and immunophenotyping by flow cytometry in HIV disease. *Clin Immunol Newslett*. 1990;10:55-61.
- Landay A, Ohlsson-Wilhelm B, Giorgi JV. Application of flow cytometry to the study of HIV infection. *AIDS*. 1990;4:479-497.
- Centers for Disease Control. 1997 Revised guidelines for performing CD4⁺ T-cell determinations in persons with human immunodeficiency virus (HIV). *MMWR*. 1997;46(No. RR-2):1-29.
- 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 DAIDS 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;1:3-30.
- 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.
- Bernard A, Bousmell L, Hill C. Joint report of the first international workshop on human leucocyte differentiation antigens by the investigators of the participating laboratories: T2 protocol. In: Bernard A, Bousmell L, Dausset J, Milstein C, Schlossman SF, eds. *Leukocyte Typing*. New York, NY: Springer-Verlag; 1984:25-60.
- Evans RL, Wall DW, Platsoucas CD, et al. Thymus-dependent membrane antigens in man: inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to the T_H2 antigen. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1981;78:544-548.
- Wood GS, Warner NL, Warnke RA. Anti-Leu-3/T4 antibodies react with cells of monocyte/macrophage and Langerhans lineage. *J Immunol*. 1983;131:212-216.
- Cobbold SP, Hale G, Waldmann H. Non-lineage, LFA-1 family, and leucocyte common antigens: new and previously defined clusters. In: McMichael AJ, ed. *Leukocyte 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.
- Organizing Committee of the Fourth International Workshop on Human Leucocyte Differentiation Antigens. Appendix A: CD guide. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leukocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press Inc; 1989:1074-1093.
- Dalgleish AG, Beverley PCL, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*. 1984;312:763-767.
- Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell*. 1986;47:333-348.

25. Rudd CE, Burgess KE, Barber EK, Schlossman SF. Monoclonal antibodies to the CD4 and CD8 antigens precipitate variable amounts of CD4/CD8-associated p56^{lck} activity. In: Knapp W, Dörken B, Gilks WR, et al, eds. *Leucocyte Typing IV: White Cell Differentiation Antigens*. New York, NY: Oxford University Press; 1989:326-327.
26. Schwinzer 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.
27. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections—Second Edition; Approved Guideline*. Villanova, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2001. NCCLS document M29-A2.
28. 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.
29. 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.
30. *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.
31. *Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Lymphocytes: Approved Guideline*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 1998. NCCLS document H42-A.
32. 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.
33. 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.
34. 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;3:33-37.
35. Angadi CV. Lack of Leu-3a epitope on T-helper (CD4) lymphocytes. *J Clin Lab Anal*. 1990;4:193-195.
36. *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline—Second Edition*. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2000. NCCLS document C28-A2.