

**MultiMix™**  
**Triple-Colour Reagent**  
**Anti-Human CD103/FITC**  
**Anti-Human CD11c/RPE**  
**Anti-Human CD19/APC**  
**Code TC665**

**ENGLISH**

**Intended use**

For in vitro diagnostic use.

TC665 is intended for use in flow cytometry. The reagent is intended for use in identification of cells expressing CD103, CD11c and CD19.

CD103 is expressed on mucosal T cells and on activated CD8-positive T cells. In several malignant conditions, such as T-cell lymphomas and hairy cell leukaemias, the cells express CD103. Antibodies to CD103 are valuable for the evaluation of chronic B-cell leukaemias and T-cell lymphomas (1, 2).

CD11c is expressed on a variety of cells including granulocytes, monocytes, macrophages, natural killer (NK)-cells, dendritic cells and neoplastic cells. Antibodies to CD11c are useful for the initial evaluation of B-cell lymphoproliferative disorders, e.g. hairy cell leukaemia and B-cell chronic lymphocytic leukaemia (1, 3, 4).

CD19 is the broadest lineage-specific surface marker for B cells and it is present on the surface of virtually all B lymphocytes, including early B cell progenitors (5). CD19 expression is maintained in B-lineage cells that have undergone neoplastic transformation (6). Antibodies to CD19 are considered essential for the initial evaluation of acute and chronic lymphoproliferative disorders (7).

Interpretation of results must be made within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a certified professional.

**Reagent provided**

TC665 comprises the following three matched fluorescent antibodies:

Monoclonal Mouse Anti-Human CD103, Clone Ber-ACT8, conjugated with fluorescein isothiocyanate isomer 1 (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD11c, Clone KB90, conjugated with R-phycoerythrin (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Clone HD37, conjugated with allophycocyanin (APC).

The three conjugates in TC665 have been produced from purified monoclonal mouse antibodies of isotype IgG1, kappa. TC665 is provided in liquid form in buffer containing 1% bovine serum albumin (BSA) and 15 mmol/L NaN<sub>3</sub>, pH 7.2. Each vial contains 50 tests (20 µL of conjugate for up to 10<sup>6</sup> leucocytes from normal human peripheral blood).

**Specificity**

Anti-CD103, Ber-ACT8, was included in the Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens, and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD103 (8).

Anti-CD11c, KB90, was included in the Sixth International Workshop and Conference on Leucocyte Cell Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD11c (9). Anti-CD11c, KB90, is reactive to the C-terminal region of CD11c (10).

Anti-CD19, HD37, was included in the Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens and studies by a number of laboratories confirmed its reactivity with CD19 (11, 12). Anti-CD19, HD37, labels human B cells in peripheral blood, bone marrow and other tissues. Additionally, B-cell lymphoproliferative disorders gave positive reactions with the antibody, i.e. acute lymphoblastic leukaemia, chronic lymphocytic leukaemia, hairy cell leukaemia, lymphoblastic lymphoma (Burkitt type), centroblastic/centrocytic lymphoma, and diffuse non-Hodgkin's lymphoma (11, 12).

**Precautions**

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN<sub>3</sub>), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.

**Storage**

Store in the dark at 2-8 °C. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the reagent is suspected, contact our Technical Services.

**Staining procedure**

1. Transfer 100 µL of anticoagulated (EDTA) blood to a 12 mm x 75 mm polystyrene test tube.
2. Add 20 µL of TC665 and mix gently by using a vortex mixer.
3. Incubate the tube in the dark at 2-8 °C for 30 minutes or at room temperature (20-25 °C) for 15-30 minutes.
4. Add 100 µL of Uti-Lyse™ Reagent A (Dako code S3325) to the tube and mix gently by using a vortex mixer. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
5. Add 1 mL of Uti-Lyse™ Reagent B (Dako code S3325) to the tube and mix gently by using a vortex mixer. Incubate the tube for 10 minutes at room temperature in the dark.
6. Centrifuge the tube at 300 x g for 5 minutes. Gently aspirate the supernatant and discard it leaving approximately 50 µL of fluid in the tube.
7. Add 2 mL of PBS (Dako code S3024) to the tube and resuspend the cells by using a vortex mixer.
8. Repeat step 6.
9. Resuspend the cells in an appropriate fluid for flow cytometry, e.g. 0.3 mL PBS.
10. Analyse the sample on a flow cytometer or store it in the dark at 2-8 °C until analysis. Samples should be analysed within 24 hours after staining.

Note that fluorochrome conjugates are light sensitive, and samples should be protected from light during the staining procedure and until the analysis.

**Procedural notes**

Step 1: It is optional to include a suitable positive and negative control sample with each run for reagent and preparation control.

Step 2: The volume of conjugate recommended is a guideline only. Optimal staining conditions may vary depending on specimen and preparation method and should be determined by each individual laboratory.

It is optional to include a control reagent test tube. The control reagent should match the conjugated antibody reagent. The recommended Triple-Colour Control Reagent for TC665 is Dako code X0978.

Steps 4 and 5: If another cell-lysing reagent is used, please follow the recommendations for that reagent. Note that if the alternative lysing reagent does not contain fixative, e.g. Dako EasyLyse™, code No. S2364, the PBS in step 9 should contain 1% paraformaldehyde or be analysed within the time frame recommended for the lysing reagent.

Step 10: Abnormal numbers of cells expressing the target antigen or cells showing aberrant expression levels of the antigen can be expected in some disease states. This may result in an altered pattern of staining. It is important to understand the normal expression pattern of an antigen and its relationship to the expression of other relevant antigens in order to perform appropriate analysis.

Multicolour reagents are preferable to single-colour reagents for the comprehensive analysis of flow cytometry specimens. The correct use of colour compensation is particularly important in multicolour analysis. The combination of FITC, RPE and APC is especially easy to work with since the emission spectra of these fluorochromes show minimum spectral overlap.

## FRANÇAIS

### Utilisation prévue

Pour utilisation en diagnostic in vitro.

Le produit TC665 est destiné à être utilisé en cytométrie en flux. Ce réactif est destiné à être utilisé pour l'identification des cellules exprimant le CD103, le CD11c et le CD19.

Le CD103 est exprimé sur les lymphocytes T des muqueuses et sur les lymphocytes T positifs au CD8 activé. Dans de nombreuses affections malignes, telles que les leucémies à lymphocytes T et les leucémies à cellules chevelues, les cellules expriment le CD103. Les anticorps dirigés contre le CD103 facilitent l'évaluation des leucémies à lymphocytes B et T chroniques (1, 2).

Le CD11c est exprimé sur un grand nombre de cellules dont les granulocytes, les monocytes, les macrophages, les cellules tueuses (NK), les cellules dendritiques et les cellules néoplasiques. Les anticorps dirigés contre le CD11c facilitent l'évaluation initiale de maladies lymphoprolifératives à lymphocytes B (ex. : les leucémies à cellules chevelues et les leucémies à lymphocytes B chroniques (1, 3, 4).

Le CD19 est le plus large marqueur de surface spécifique à la lignée lymphocytaire B ; il est présent à la surface de quasiment tous les lymphocytes B, y compris des progéniteurs des lymphocytes B précoces (5). L'expression du CD19 est maintenue dans les cellules de la lignée B ayant subi une transformation néoplasique (6). Les anticorps dirigés contre le CD19 sont considérés comme essentiels pour l'évaluation initiale des maladies lymphoprolifératives aiguës et chroniques (7).

Les résultats doivent être interprétés par un professionnel qualifié et tenir compte des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques.

### Réactifs fournis

Le produit TC665 comprend les trois anticorps fluorescents associés suivants :

Monoclonal Mouse Anti-Human CD103, clone Ber-ACT8, conjugué à l'isomère 1 de l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD11c, clone KB90, conjugué à la R-phycoérythrine (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, clone HD37, conjugué à l'allophycocyanine (APC).

Les trois conjugués du TC665 ont été préparés à partir d'anticorps monoclonaux purifiés de souris, d'isotype IgG1, kappa. Le TC665 est fourni sous forme liquide dans un tampon contenant 1 % d'albumine de sérum bovin (BSA) et 15 mmol/L de NaN<sub>3</sub> à pH 7,2. Chaque flacon contient la quantité de conjugué nécessaire pour effectuer 50 tests (20 µL de conjugué pour 10<sup>6</sup> leucocytes au maximum à partir de sang périphérique humain sain).

### Spécificité

L'anticorps anti-CD103, Ber-ACT8, a été inclus lors de la Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Cinquième Conférence et Atelier International sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)). Des études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD103 (8).

L'anticorps anti-CD11c, KB90, a été inclus lors de la Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Sixième Conférence et Atelier International sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)). Des études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD11c (9). L'anticorps anti-CD11c, KB90, réagit à la région C-terminale du CD11c (10).

L'anticorps anti-CD19, HD37, a été inclus lors des Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (Seconde, Troisième, Quatrième et Cinquième Conférences et Ateliers Internationaux sur les Antigènes de Différenciation des Leucocytes Humains (HLDA)). Des études réalisées par plusieurs laboratoires ont confirmé sa réactivité au CD19 (11, 12). L'anticorps anti-CD19, HD37 marque les lymphocytes B humains dans le sang périphérique, la moelle osseuse et d'autres tissus. De plus, les maladies lymphoprolifératives à lymphocytes B ont présenté une réaction positive à l'anticorps, notamment les leucémies lymphoblastiques aiguës, les leucémies lymphocytaires chroniques, les leucémies à cellules chevelues, les lymphomes lymphoblastiques (de Burkitt), les lymphomes centroblastiques/centrocytiques, ainsi que les lymphomes non hodgkiniens diffus (11, 12).

### Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN<sub>3</sub>), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations pour former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.

### Conservation

Conservé à l'abri de la lumière entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date limite de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, les contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que des échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, ne pouvant être expliquée par un changement des procédures du laboratoire et en cas de suspicion d'un problème avec le réactif, contacter notre service technique.

### Procédure de coloration

1. Transférer 100 µL de sang non coagulé (EDTA) dans un tube à essai en polystyrène de 12 mm x 75 mm.
2. Ajouter 20 µL de TC665 et mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur vortex.
3. Incuber le tube dans l'obscurité entre 2 et 8 °C pendant 30 minutes ou à température ambiante (20-25 °C) pendant 15 à 30 minutes.
4. Ajouter 100 µL d'Uti-Lyse™ Reagent A (réf. S3325 de Dako) dans le tube et mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 10 minutes à température ambiante.
5. Ajouter 1 mL d'Uti-Lyse™ Reagent B (réf. S3325 de Dako) dans le tube et mélanger doucement à l'aide d'un mélangeur vortex. Incuber le tube dans l'obscurité pendant 10 minutes à température ambiante.
6. Centrifuger le tube à 300 g pendant 5 minutes. Aspirer doucement le surnageant et l'éliminer en laissant environ 50 µL de liquide dans le tube.
7. Ajouter 2 mL de PBS (réf. S3024 de Dako) dans le tube et remettre les cellules en suspension à l'aide d'un mélangeur vortex.
8. Répéter l'étape 6.
9. Remettre les cellules en suspension dans un liquide approprié pour la cytométrie en flux, ex. : 0,3 mL de PBS.
10. Analyser l'échantillon sur un cytomètre en flux ou conserver à l'abri de la lumière entre 2 et 8 °C jusqu'à l'analyse. Analyser les échantillons dans les 24 heures qui suivent la coloration.

Noter que les conjugués fluorochromes sont photosensibles. Les échantillons doivent être protégés de la lumière pendant la procédure de coloration et jusqu'à l'analyse.

### Remarques sur la procédure

Étape 1 : Il est facultatif d'inclure un échantillon de contrôle positif et négatif approprié avec chaque cycle comme contrôle de réactif et de préparation.

Étape 2 : Le volume de conjugué n'est donné qu'à titre indicatif. Les conditions de coloration optimales peuvent varier en fonction de l'échantillon et de la méthode de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement.

Un tube à essai de réactif de contrôle est facultatif. Le réactif de contrôle doit correspondre au réactif anticorps conjugué. Le Triple-Colour Control Reagent recommandé pour TC665 porte la référence Dako X0978.

Étapes 4 et 5 : Si un autre réactif de lyse de cellule est utilisé, suivre les recommandations fournies avec ce réactif. Noter que si l'autre réactif de lyse ne contient pas de fixateur comme le produit Dako EasyLyse™, réf. S2364, le PBS de l'étape 9 doit contenir 1 % de paraformaldéhyde sauf si l'échantillon est analysé dans les délais recommandés pour le réactif de lyse.

Étape 10 : Pour certaines maladies, on peut s'attendre à obtenir des anomalies du nombre de cellules exprimant l'antigène cible ou des niveaux aberrants d'expression de l'antigène. Cela peut modifier le profil de coloration. Afin d'effectuer des analyses appropriées, il est important de comprendre le profil d'expression normal de l'antigène et ses relations avec l'expression d'autres antigènes pertinents.

Les réactifs multicolores sont préférables aux réactifs unicolores pour l'analyse complète des échantillons de cytométrie en flux. L'utilisation correcte de la compensation de couleur est particulièrement importante dans les analyses multicolores. L'association du FITC, de la RPE et de l'APC est particulièrement facile à utiliser car le chevauchement des spectres d'émission de ces fluorochromes est minimal.

## DEUTSCH

### Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

TC665 ist für durchflusszytometrische Testverfahren bestimmt. Das Reagenz dient zur Identifizierung von Zellen, die CD103, CD11c und CD19 exprimieren.

CD103 wird von T-Zellen der Schleimhaut und aktivierten CD8-positiven T-Zellen exprimiert. Die Zellen exprimieren CD103 bei Vorliegen bestimmter Malignitäten, z.B. bei T-Zell-Lymphomen und Haarzellenleukämien. Antikörper gegen CD103 sind wichtig für die Bestimmung von chronischen B-Zell-Leukämien und T-Zell-Lymphomen (1, 2).

CD11c wird von zahlreichen Zellen, darunter Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, natürlichen Killer (NK)-Zellen, dendritischen sowie neoplastischen Zellen exprimiert. Antikörper gegen CD11c sind wesentlich bei der Erstuntersuchung lymphoproliferativer B-Zell-Erkrankungen, z.B. der Haarzellen- und der chronischen B-Zell-Lymphozytenleukämie (1, 3, 4).

CD19 ist der umfassendste abstammungsspezifische Oberflächenmarker für B-Zellen und auf nahezu allen B-Lymphozyten einschließlich früher B-Vorläuferzellen nachweisbar (5). In B-Zellen, die eine neoplastische Transformation durchlaufen haben, bleibt die CD19-Expression erhalten (6). Antikörper gegen CD19 gelten als wichtig bei der Erstuntersuchung akuter und chronischer lymphoproliferativer Erkrankungen (7).

Auswertungen müssen von einem qualifizierten Experten unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer Diagnostiktests des Patienten vorgenommen werden.

### Mitgelieferte Reagenzien

TC665 enthält folgende drei aufeinander abgestimmte fluoreszierende Antikörper:

Monoclonal Mouse Anti-Human CD103, Klon Ber-ACT8, konjugiert mit Fluoreszein-Isotiozyanat-Isomer 1 (FITC).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD11c, Klon KB90, konjugiert mit R-Phycoerythrin (RPE).

Monoclonal Mouse Anti-Human CD19, Klon HD37, konjugiert mit Allophycocyanin (APC).

Die drei in TC665 enthaltenen Konjugate wurden aus gereinigten monoklonalen Mausantikörpern vom Isotyp IgG1, Kappa hergestellt. TC665 wird in flüssiger Form in einem Puffer mit 1 % Rinderserum-Albumin (BSA) und 15 mmol/L Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, pH 7,2 geliefert. Das Konjugat in jedem Fläschchen ist ausreichend für 50 Tests (20 µL Konjugat für bis zu 10<sup>6</sup> Leukozyten aus normalem humanem peripherem Blut).

### Spezifität

Anti-CD103, Ber-ACT8 wurde bei dem/der Fifth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (5. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht, und seine Reaktivität mit CD103 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (8).

Anti-CD11c, KB90 wurde bei dem/der Sixth International Workshop and Conference on Human Leucocyte Differentiation Antigens (6. Internationale(r) Workshop und Konferenz über humane Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht, und seine Reaktivität mit CD11c wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (9). Anti-CD11c, KB90 reagiert mit dem C-terminalen Bereich von CD11c (10).

Anti-CD19, HD37 wurde bei den Second, Third, Fourth and Fifth International Workshops and Conferences on Human Leucocyte Differentiation Antigens (2., 3., 4. und 5. Internationale(r) Workshop und Konferenz über menschliche Leukozyten differenzierende Antigene) untersucht, und seine Reaktivität mit CD19 wurde in Studien einer Reihe von Labors bestätigt (11, 12). Anti-CD19, HD37 markiert humane B-Zellen in peripherem Blut, Knochenmark und anderen Geweben. Außerdem zeigten lymphoproliferative Erkrankungen der B-Zellen mit dem Antikörper positive Reaktionen, z.B. bei akuter lymphoblastischer bzw. chronisch lymphatischer Leukämie, Haarzellenleukämie, beim lymphoblastischen (Typ Burkitt) und Zentroblasten-/Zentrozyten-Lymphom sowie beim diffusen Non-Hodgkin-Lymphom (11, 12).

### Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (Na<sub>3</sub>N), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Ansammlungen von Natriumazid können auch in Konzentrationen, die nicht als gefährlich klassifiziert sind, mit Blei- und Kupferabflussrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Azidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.

### Aufbewahrung

Bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläschchen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien anders als entsprechend den in der Packungsbeilage angegebenen Bedingungen aufbewahrt, muss deren Verwendung vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Reagenz hindeutet, ist unser technischer Kundendienst zu verständigen.

### Färbeverfahren

1. 100 µL antikoaguliertes (EDTA) Blut in ein 12 mm x 75 mm Polystyrol-Teströhrchen geben.
2. 20 µL TC665 dazugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen.
3. 30 Minuten im Dunkeln bei 2–8 °C oder 15–30 Minuten bei Raumtemperatur (20–25 °C) inkubieren.
4. 100 µL Uti-Lyse™ Reagent A (Dako Code-Nr. S3325) zugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen. Teströhrchen 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.
5. 1 mL Uti-Lyse™ Reagent B (Dako Code-Nr. S3325) zugeben und mit einem Vortexer vorsichtig mischen. Teströhrchen 10 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubieren.
6. 5 Minuten bei 300 x g zentrifugieren. Den Überstand vorsichtig absaugen und entsorgen, dabei etwa 50 µL Flüssigkeit übriglassen.
7. 2 mL PBS (Dako Code-Nr. S3024) dazugeben und die Zellen auf einem Vortexer resuspendieren.
8. Schritt 6 wiederholen.
9. Zellen in einer geeigneten Flüssigkeit für die Durchflusszytometrie, z.B. 0,3 mL PBS, resuspendieren.
10. Die Probe auf einem Durchflusszytometer analysieren oder bis zur Analyse bei 2–8 °C im Dunkeln aufbewahren. Die Proben innerhalb von 24 Stunden nach dem Färben analysieren.

Bitte beachten, dass Fluorochrom-Konjugate lichtempfindlich sind und die Proben während des Färbeverfahrens und bis zur Analyse vor Licht geschützt werden müssen.

### Hinweise

Schritt 1: Als Kontrolle für das Reagenz und das Präparat kann bei jedem Durchlauf eine geeignete positive und negative Kontrollprobe mitlaufen.

Schritt 2: Die empfohlene Konjugatmenge gilt nur als Richtlinie. Optimale Färbungsbedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst bestimmt werden.

Es kann auch ein Teströhrchen mit einem Kontrollreagenz mitgefärbt werden. Das Kontrollreagenz sollte dem konjugierten Antikörperreagenz entsprechen. Für TC665 wird Dako Code-Nr. X0978 als dreifarbiges Kontrollreagenz empfohlen.

Schritte 4 und 5: Wird ein anderes Reagenz für die Zelllysierung verwendet, bitte die Empfehlungen für dieses Reagenz befolgen. Falls dieses Lysierungsreagenz kein Fixiermittel wie Dako EasyLyse™, Code-Nr. S2364 enthält, sollte die PBS in Schritt 9 1 % Paraformaldehyd enthalten, es sei denn, die Probe wird innerhalb des für das Lysereagenz empfohlenen Zeitrahmens analysiert.










Schritt 10: Bei einigen Krankheitsbildern sind bei den das Zielantigen exprimierenden Zellen anomale Mengen oder abweichende Antigen-Expressionsgrade zu erwarten. Dies kann zu einem veränderten Färbemuster führen. Um entsprechende Analysen durchführen zu können, ist es wichtig, das normale Expressionsmuster der Antigene und deren Verhältnis zur Expression anderer relevanter Antigene zu kennen.

Für die umfangreiche Analyse von Durchflusszytometrieproben sind mehrfarbige Reagenzien einfarbigen vorzuziehen. Die korrekte Durchführung des Farbausgleichs ist bei der Mehrfarben-Analyse von besonderer Bedeutung. Die Kombination aus FITC, RPE und APC ist besonders einfach in der Anwendung, da es bei den Emissionsspektren dieser Fluorochrome nur zu minimalen Überschneidungen kommt.

## References/ Références/ Literatur

- van Dongen JJM, Adriaansen HJ. Immunobiology of leukemia. In: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF, editors. Leukemia. Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: WB Saunders Company; 1996. p. 83-130.
- Kruschwitz M, Fritzsche G, Schwarting R, Micklem K, Mason DY, Falini B, et al. Ber-ACT8: New monoclonal antibody to the mucosa lymphocyte antigen. J Clin Pathol 1991;44:636-45.
- Sánchez ML, Almeida J, Vidrales B, López-Berges MC, García-Marcos MA, Moro MJ, et al. Incidence of phenotypic aberrations in a series of 467 patients with B chronic lymphoproliferative disorders: basis for the design of specific four-color stainings to be used for minimal residual disease investigation. Leukemia 2002;16:1460-9.
- Marotta G, Raspadori D, Sestigiani C, Scalia G, Bigazzi C, Lauria F. Expression of the CD11c antigen in B-cell chronic lymphoproliferative disorders. Leuk Lymphoma 2000;37:145-9.
- Pezzutto A, Dörken B, Rabinovitch PS, Ledbetter JA, Moldenhauer G, Clark EA. CD19 monoclonal antibody HD37 inhibits anti immunoglobulin-induced B cell activation and proliferation. J Immunol 1987;138:2793-9.
- Sato S, Tedder TF. BC3. CD19 workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 133-5.
- Braylan RC, Orfao A, Borowitz MJ, Davis BH. Optimal number of reagents required to evaluate hematology neoplasias: results of an international consensus meeting. Cytometry 2001;46:23-7.
- Cepek KL, Wong DA, Brenner MB, Springer TA. AS7/8.4. CD103 (αE) cluster report. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. p. 1666-7.
- Hogg N. AS4. CD11c workshop panel report. In: Kishimoto T, Kikutani H, von dem Borne AEG, Goyert SM, Mason DY, Miyasaka M, et al., editors. Leucocyte typing VI. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 6th International Workshop and Conference; 1996 Nov 10-14; Kobe, Japan. New York, London: Garland Publishing Inc.; 1997. p. 347-8.
- Luk J, Luther E, Diamond MS, Springer TA. AS5.9. Subunit specificity and epitope mapping of Mac-1 and p150,95 mAb using chimeric CD11b X CD11c transfectants. In: Schlossman SF, Boumsell L, Gilks W, Harlan JM, Kishimoto T, Morimoto C, et al., editors. Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. Proceedings of the 5th International Workshop and Conference; 1993 Nov 3-7; Boston, USA. Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press; 1995. Volume 2. p. 1599-1601.
- Nadler LM. B cell/leukemia panel workshop: summary and comments. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. Leucocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 3-43.
- Mason DY, Ladyman H, Gatter KC. Immunohistochemical analysis of monoclonal anti-B cell antibodies. In: Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM, Bernstein ID, editors. Leucocyte typing II. Proceedings of the 2nd International Workshop on Human Leukocyte Differentiation Antigens; 1984 Sept 17-20; Boston, USA. New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo: Springer-Verlag; 1986. Volume 2. p. 245-55.

## Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

 Catalogue number Référence du catalogue Bestellnummer	 Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	 Use by Utiliser jusque Verwendbar bis
 In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-Vitro-Diagnostikum	 Keep away from sunlight (consult storage section) Tenir à l'abri de la lumière du soleil (voir la section Conservation) Vor Sonnenlicht schützen (siehe Abschnitt Aufbewahrung)	 Manufacturer Fabricant Hersteller
 Consult instructions for use Consulter les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	 Batch code Code du lot Chargenbezeichnung	 Authorized representative in the European Community Représentant agréé dans la Communauté européenne Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft



Agilent Technologies Singapore (International) Pte Ltd.  
No. 1 Yishun Avenue 7  
Singapore, 768923  
Tel. +44 161 492 7050  
www.agilent.com