

Флуоросферы FlowCheck™

КАТАЛОЖНЫЙ НОМЕР 6605359 – 3 x 10 мл

PN 4276179-H



Проверка оптической системы и струйной автоматки проточного цитофлуориметра

Для диагностики *in vitro*

ОПИСАНИЕ ПРОДУКТА

Флуоросферы FLOW-CHECK представляют собой суспензию флуоросфер (флуоресцирующих микросфер) с известными характеристиками, которая используется для ежедневной проверки оптической системы и струйной автоматки цитометра.

КРАТКАЯ ИНФОРМАЦИЯ О НАЗНАЧЕНИИ

При выполнении проточного цитофлуориметрического анализа оптическая система и струйная автоматка настраиваются таким образом, чтобы получить максимально четкие сигналы флуоресценции и светорассеяния. Использование стандартных флуоросфер для проверки настройки оптики является общепризнанным методом.¹⁻³ Флуоросферы FLOW-CHECK имеют стандартный постоянный размер и стабильную интенсивность флуоресценции. Стандартность флуоросфер позволяет настроить и/или проверить настройку оптической системы и струйной автоматки проточного цитометра.

РЕАГЕНТ

Флуоросферы FLOW-CHECK,
Каталожный номер 6605359 - 3 x 10 мл

СОСТАВ РЕАГЕНТА

Реагент FLOW-CHECK представляют собой полистирольные флуоросферы диаметром 10 мкм (номинально), суспендированные в водной среде с сурфактантом и консерватором. Концентрация флуоросфер 1×10^6 /мл (номинально). Каждая флуоросфера окрашена красителем с длиной волны излучения от 525 до 700 нм при длине волны возбуждения 488 нм.

ВНИМАНИЕ

1. Флуоросферы следует использовать только в той среде, в которой они поставляются. Добавление органических растворителей или растворов высокой ионной силы может привести к необратимому увеличению размеров флуоросфер или их агрегации.
2. При хранении флуоросферы осаждаются. Перед использованием необходимо их полностью ресуспендировать.
3. Не используйте флуоросферы с истекшим сроком годности, указанным на этикетке флакона.
4. При обращении с этим реагентом следует соблюдать требования GLP (Good Laboratory Practice).
5. Не отбирайте флуоросферы непосредственно из флакона. Следует отбирать флуоросферы из пробирки.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

При температуре 2 - 8°C реагент стабилен в течение срока, указанного на этикетке флакона. Замораживание реагента не допускается. Избегайте воздействия света. Распечатанные флаконы при хранении в охлажденном состоянии стабильны в течение срока, указанного на этикетке.

ПРИЗНАКИ НЕПРИГОДНОСТИ РЕАГЕНТА

Невозможность получить ожидаемые результаты может свидетельствовать о нестабильности или непригодности реагента. Также на это может указывать наличие вторичных популяций (более 10% от общего числа флуоросфер) или бимодальное распределение с высотой вторичного пика более 10% основного пика.

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Подготовка не требуется. Разведение флуоросфер не требуется. Перед использованием флуоросферы необходимо перемешать.

ОПИСАНИЕ ПРОЦЕДУРЫ

ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Флуоросферы FLOW-CHECK,
Каталожный номер 6605359 - 3 x 10 мл

НЕОБХОДИМЫЕ, НО НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Пробирки надлежащих размеров для анализа
Проточный цитофлуориметр
Миксер (вортекс)

Определение значений для повседневного использования

1. Для того чтобы определить параметры флуоресценции, используйте нормальную конфигурацию фильтров, рекомендованную производителем (см. руководства к прибору).
2. Создайте протокол тестирования флуоросфер FLOW-CHECK, содержащий двупараметровую диаграмму "Светорассеяние в прямом направлении (FS) – Светорассеяние в боковом направлении (SS)" и однопараметровые гистограммы светорассеяния в прямом направлении (FS) и требующейся флуоресценции. Создайте логическое ограничение и/или прямоугольный регион на диаграмме FS – SS. Поставьте в соответствие данному ограничению (региону) гистограммы светорассеяния в прямом направлении (FS) и линейной флуоресценции. На каждой однопараметровой гистограмме создайте линейный регион. Все значения компенсации флуоресценции установите на ноль (0) процентов. В качестве условия остановки установите 5 000 событий в логическом ограничении (см. рисунок 1).
3. Тщательно перемешайте флуоросферы FLOW-CHECK во флаконе. На дне флакона не должно остаться осадка.
4. Внесите 15 - 20 капель (около 0.5 мл) флуоросфер FLOW-CHECK в подходящую по размерам пробирку.

ЭТО ВАЖНО: ЧТОБЫ ИЗБЕЖАТЬ КОНТАМИНАЦИИ И УХУДШЕНИЯ КАЧЕСТВА ФЛУОРОСФЕР, НЕ ОТБИРАЙТЕ ФЛУОРОСФЕРЫ НЕПОСРЕДСТВЕННО ИЗ ФЛАКОНА.

5. Перемешайте и отберите флуоросферы из пробирки.
6. Если требуется, установите скорость потока менее 250 событий в секунду.
7. Если требуется, настройте датчики светорассеяния таким образом, чтобы основная популяция флуоросфер находилась в центре диаграммы. Отредактируйте логическое ограничение так, чтобы включить все синглетные флуоросферы.
8. Если требуется, настройте датчики линейной флуоресценции таким образом, чтобы каждый пик находился примерно в центре гистограммы. Отредактируйте линейные регионы так, чтобы включить флуоресценцию флуоросфер.
9. При настройке оптической системы вручную выполните следующие действия. В противном случае переходите к пункту 10.
 - a. Оптимизируйте сигнал светорассеяния (см. руководства к прибору).

- b. Оптимизируйте сигнал(ы) флуоресценции (см. руководства к прибору).
 - c. Если требуется, снова настройте датчики светорассеяния в прямом и боковом направлениях таким образом, чтобы основная популяция находилась в центре диаграммы.
 - d. Если требуется, снова настройте датчики линейной флуоресценции так, чтобы каждый пик находился примерно в центре гистограммы.
10. Запишите в журнал коэффициент вариации на полувысоте пика (HPCV) и положение пиков светорассеяния в прямом направлении (FS) и каждого параметра флуоресценции (см. рисунок 2).

ЗАМЕЧАНИЕ: При работе с приборами, на которых установить положение пика достаточно трудно, можно использовать среднюю интенсивность сигнала, если положение логических ограничений и регионов остается постоянным.

11. Повторите шаги 1 - 10, чтобы получить, по крайней мере, 20 точек данных. Исследование следует проводить через различные промежутки времени после прогрева прибора. Данные собираются в течение 5 дней. По завершении считывания данных вычислите и запишите среднее, стандартное отклонение (SD), ± 2 SD HPCV и положение пика для каждого параметра (см. рисунок 2). Данные значения представляют диапазоны ожидаемых значений для вашей лаборатории.
12. Создайте графики Леви-Дженнингса HPCV для каждого интересующего вас параметра, используя среднее и диапазон ± 2 SD, вычисленные в пункте 11 (рисунок 3).
13. Повторите действия 1 - 12 в том случае, если в системе детекции светорассеяния или флуоресценции были внесены существенные изменения.
14. При использовании новой партии флуоросфер FLOW-CHECK повторите описанную процедуру полностью.

Ежедневная проверка настройки оптической системы и струйной автоматки

1. Для того чтобы определить параметры флуоресценции, используйте нормальную конфигурацию фильтров, рекомендованную производителем (см. руководства к прибору).
2. Выберите протокол для тестирования флуоросфер FLOW-CHECK (см. шаг 2 процедуры "Определение значений для повседневного использования").
3. Тщательно перемешайте флуоросферы FLOW-CHECK во флаконе. На дне флакона не должно остаться осадка.
4. Внесите 15 - 20 капель (около 0.5 мл) флуоросфер FLOW-CHECK в пробирку.

ЭТО ВАЖНО: ЧТОБЫ ИЗБЕЖАТЬ КОНТАМИНАЦИИ И УХУДШЕНИЯ КАЧЕСТВА ФЛУОРОСФЕР, НЕ ОТБИРАЙТЕ ФЛУОРОСФЕРЫ НЕПОСРЕДСТВЕННО ИЗ ФЛАКОНА.

5. Перемешайте и отберите флуоросферы из пробирки.
6. Если требуется, настройте датчики таким образом, чтобы расположить пики в установленных диапазонах (см. процедуру "Определение значений для повседневного использования").
7. Запишите коэффициенты вариации на полувысоте пика (HPCV) и положение пиков для требующихся параметров (см. рисунок 4).

ЗАМЕЧАНИЕ: При работе с приборами, на которых установить положение пика достаточно трудно, можно использовать среднюю интенсивность сигнала, если положение логических ограничений и регионов остается постоянным.

8. Запишите значения HPCV для требующихся параметров на графиках Леви-Дженнингса.

9. Девяносто пять процентов значений должны попасть в диапазон ± 2 SD. Если значения смещаются за пределы этого диапазона, см. раздел "ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ".
10. После включения прибора выполняйте пункты 1 - 9.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. При анализе флуоросфер FLOW-CHECK с высокой скоростью потока может наблюдаться более широкое распределение популяций и более высокие значения НРСV.
2. Ежедневный анализ флуоросфер FLOW-CHECK необходимо проводить с использованием одних и тех же положений пиков, определенных с помощью процедуры "Определение значений для повседневного использования".

ПОИСК И УСТРАНЕНИЕ НЕИСПРАВНОСТЕЙ

1. Убедитесь в том, что образец флуоросфер не разведен и не загрязнен. Разведение может привести к увеличению значений НРСV.
2. Убедитесь в том, что флуоросферы FLOW-CHECK хорошо перемешаны, а на дне флакона отсутствует осадок.
3. Убедитесь в том, что крышка емкости для обжимающей жидкости плотно закручена и не подтекает.
4. Убедитесь в том, что в фильтре обжимающей жидкости не образуется большое количество пузырьков. При подозрении на наличие засорения или пузырьков промойте или заправьте линию тока образца.
5. Дополнительную информацию об устранении неисправностей см. в руководствах к прибору.

ОЖИДАЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Каждая лаборатория должна установить собственные диапазоны ожидаемых значений. Эти диапазоны зависят от прибора, на котором выполняется исследование, его настроек и условий работы. Технические характеристики и особенности определения ожидаемых значений приводятся в руководствах к прибору. Для подсчета и определения размера частиц использовался анализатор частиц COULTER®.

Ожидаемые результаты, полученные на разных приборах, могут отличаться вследствие отличий световых фильтров, мощности лазера, длины волны излучения, режима работы лазера, типа проточной ячейки, скорости подачи образца и используемой программы статистического анализа. Именно поэтому при выполнении лабораторной программы гарантии качества необходимо выполнять повторный анализ и вычисление средних и стандартных отклонений для всех требующихся параметров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Applications of Flow Cytometry: Quality Assurance and Immunophenotyping of Lymphocytes; Approved Guideline. 1998. NCCLS document H42-A.
2. Guideline for Flow Cytometric Immunophenotyping: A Report From the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. 1993. Cytometry 14:702-715.
3. 1994 Revised Guidelines for the Performance of CD4+ T-Cell Determinations in Persons with Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infection. 1994. Mortality and Morbidity Weekly Report (MMWR). 43:7-8.

ЗАКАЗ РЕАГЕНТА

Флуоросферы FLOW-CHECK, Каталожный номер 6605359 - 3 флакона по 10 мл

За дополнительной информацией, а также при получении поврежденного товара, обращайтесь в местное представительство компании Beckman Coulter. Телефон в США 800-526-7694.

ТОРГОВЫЕ ЗНАКИ

Логотип Beckman Coulter и Flow-Check являются зарегистрированными торговыми знаками компании Beckman Coulter Inc.



Beckman Coulter, Inc.
4300 N. Harbor Blvd.
Fullerton, CA 92835
www.beckmancoulter.com



Beckman Coulter Ireland Inc.
Mervue Business Park,
Mervue, Galway,
Ireland (353 91 774068)

Распечатано в России
Изготовлено в США

© 2005 Beckman Coulter, Inc.
Авторские права защищены.

Рисунок 1. Диаграммы флуоросфер Flow-Check

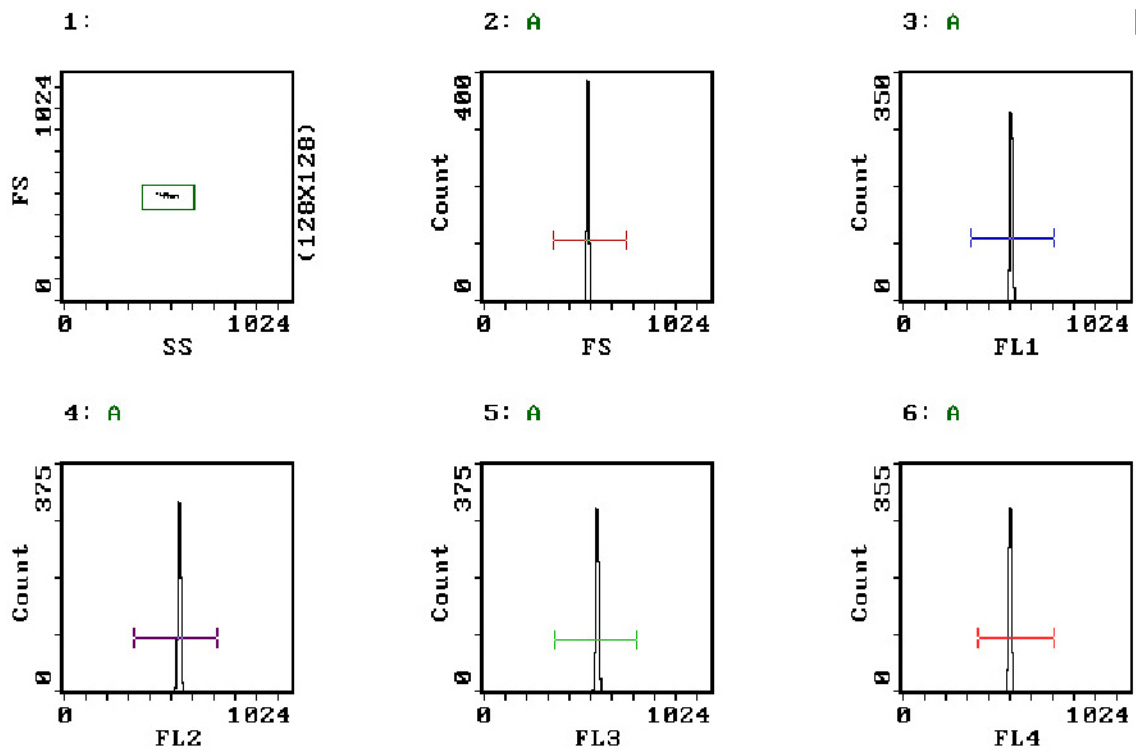


Рисунок 2. Пример таблицы положений пиков флуоросфер FLOW-CHECK и значений HPCV при определении значений для повседневного использования.

Определение значений для повседневного использования
 Флуоросферы Flow-Check

Номер партии
 Срок годности
 Прибор

| Тестирование | FS | | FL1 | | FL2 | | FL3 | | FL4 | |
|--------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
| | Пик | HPCV | Пик | HPCV | Пик | HPCV | Пик | HPCV | Пик | HPCV |
| 1 | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | |
| 19 | | | | | | | | | | |
| 20 | | | | | | | | | | |
| Среднее | | | | | | | | | | |
| SD | | | | | | | | | | |
| +2SD | | | | | | | | | | |
| -2SD | | | | | | | | | | |

Рисунок 3. Пример графика Леви-Джинингса для ежедневной регистрации значений НРСV.

График Леви-Джинингса для ежедневной проверки настройки оптической системы
 Флуоросферы Flow-Check

Номер партии
 Срок годности
 Прибор

Временной период

Коэффициент вариации на полувысоте пика: FS FL1 FL2 FL3 FL4

НРСV

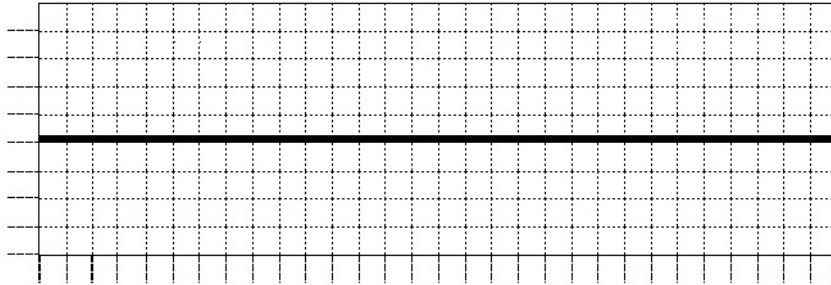


Рисунок 4. Пример таблицы для записи положения пиков флуоросфер FLOW-CHECK и НРСV при ежедневной проверке оптической системы и струйной автоматки.

Журнал ежедневной проверки оптической системы
 Флуоросферы Flow-Check

Номер партии
 Срок годности
 Прибор

| Тестиру вание | FS | | FL1 | | FL2 | | FL3 | | FL4 | |
|------------------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|
| | Пик | НРСV | Пик | НРСV | Пик | НРСV | Пик | НРСV | Пик | НРСV |
| 1 | | | | | | | | | | |
| 2 | | | | | | | | | | |
| 29 | | | | | | | | | | |
| 30 | | | | | | | | | | |