

Система реагентов IMMUNOPREP™ Реагенты лизиса цельной крови

REF 7546946

REF 7546999

Ч. № 7507950-P



IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Система реагентов IMMUNOPREP состоит из лабораторных реактивов общего назначения, используемых для подготовки лейкоцитов из цельной крови для иммунофлуоресцентных измерений в оптических проточных цитометрах. Система реагентов IMMUNOPREP (Ч. № 7546946) предназначена для использования на рабочей станции COULTER® Q-PREP™, система реагентов IMMUNOPREP (Ч. № 7546999) предназначена для использования на рабочих станциях COULTER MULTI-Q-PREP™, COULTER TQ-Prep™ и FP 1000.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ

Возможность классификации белых клеток крови человека в зависимости от экспрессии их поверхностных антигенов обеспечила исследователей важной диагностической и прогностической информацией.^{1,2} Исторические методы изоляции лейкоцитов для иммунофлуоресценции включают техники лизирования цельной крови и разделения по градиенту плотности.³ Подобные коммерчески доступные процедуры требуют промывки пробы для удаления свободных антител и остатков клеток. Повторные повреждения клеток при перемешивания вручную, на вращательной мешалке и центрифугирования могут избирательно повредить злочастные или "активированные" клетки. Кроме того, может произойти неслучайная потеря клеток за счёт прилипания к контейнеру или их неспособности полностью осесть в процессе центрифугирования.⁴ Большинство процедур являются трудоёмкими, требуют точного знания техники и перестают поддаваться обработке при работе с большим количеством проб. В 1987 году была создана система реагентов IMMUNOPREP для быстрой, автоматизированной подготовки цельной крови для иммунофенотипирования и сейчас она широко используется в различных лабораториях, работающих с проточной цитометрией.^{5,6}

ПРИНЦИПЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

Система реагентов IMMUNOPREP является быстрой и мягкой системой лизиса эритроцитов, не требующей промывки и сохраняющей морфологию лейкоцитов и целостность клеточной мембраны.⁵ Устранена потеря клеток, связанная с промывкой и центрифугированием. Из-за отсутствия необходимости этих этапов, время проведения анализа существенно сокращается. Автоматизация ещё больше укорачивает время подготовки, обеспечивая возможность быстрой реакции в неотложных клинических ситуациях.

Система реагентов IMMUNOPREP является подобранной системой трёх реагентов, предназначенных для специальной подготовки рабочей станции. Комбинация реагентов состоит из IMMUNOPREP A, агента лизиса эритроцитов, IMMUNOPREP B, лейкоцитарного стабилизатора и IMMUNOPREP C, стабилизатора клеточной мембраны.

РЕАКТИВЫ

Система реагентов IMMUNOPREP Ч. № 7546946, для использования на рабочей станции COULTER Q-PREP. Система реагентов IMMUNOPREP Ч. № 7546999, для использования на рабочих станциях COULTER MULTI-Q-PREP, COULTER TQ-Prep и на FP 1000.

Реагенты специально упакованы для соответствия пробы каждой рабочей станции.

Система реагентов IMMUNOPREP для:

Реагенты	Q-PREP	TQ-Prep/ MULTI-Q-PREP/FP 1000
IMMUNOPREP A	70 mL	215 mL
IMMUNOPREP B	32 mL	95 mL
IMMUNOPREP C	14 mL	36 mL

СОСТАВ РЕАКТИВОВ

IMMUNOPREP A	Муравьиная кислота	1,2 mL/L
	Стабилизатор	
IMMUNOPREP B	Углекислый натрий	6,0 g/L
	Хлорид натрия	14,5 g/L
	Сульфат натрия	31,3 g/L
	Стабилизатор	
IMMUNOPREP C	Параформальдегид	10,0 g/L
	Буферы	

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ

1. IMMUNOPREP C содержит <1% формальдегид. Избегайте попадания в глаза и на кожу, так как формальдегид может необратимо повредить эти ткани. Не вдыхайте пары. Необходимо использовать защитные очки, чтобы избежать контакта с глазами. Необходимо использовать водостойкие защитные перчатки, такие как латексные или подобные им, чтобы избежать контакта с кожей.
2. С образцами, пробами и всеми материалами, с ними соприкасающимися, следует работать как с потенциально передающими инфекцию и утилизировать их с соответствующими мерами предосторожности.
3. Никогда не пипетируйте ртом и избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками.
4. Не используйте реагент после даты истечения срока годности, указанной на этикетке флакона или комплекта.
5. Реагенты IMMUNOPREP должны использоваться как единый набор, предоставленный в комплекте для соответствующего прибора.
6. Использование длительности и температуры инкубации, отличных от указанных, может привести к ошибочным результатам.
7. Избегайте бактериального заражения реагентов, так как оно может привести к ошибочным результатам.
8. Следуйте надлежащей лабораторной практике (GLP) при работе с этими реагентами.
9. При попадании на кожу может вызывать сенсibilизацию.
10. При попадании в глаза немедленно промойте их большим количеством воды и обратитесь к врачу.

11. Используйте соответствующую защитную одежду, перчатки и средства защиты глаз и лица.
12. При несчастном случае или плохом самочувствии обратитесь к врачу (по мере возможности, с предоставлением соответствующей этикетки).

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТА

Подготовки не требуется. Используйте реагенты IMMUNOPREP прямо из флаконов, перемешав аккуратным переворачиванием перед помещением в рабочую станцию.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Хранить при комнатной температуре (15-30°C). Невскрытые флаконы с реагентами сохраняют стабильность до истечения срока годности, указанного на этикетке комплекта. Открытые флаконы реагентов сохраняют стабильность в течение 30 дней после установки в рабочую станцию.

Реагенты не содержат азидов, способны к биодegradации и не чувствительны к свету. При случайной заморозке, разморозьте полностью при комнатной температуре и аккуратно перемешайте содержимое флаконов перед использованием. Выбрасывайте пустые флаконы из-под реагентов сразу после использования.

ПРИЗНАКИ РАЗРУШЕНИЯ

В норме реагенты IMMUNOPREP выглядят как прозрачная жидкость. На разрушение могут указывать любое изменение физических свойств реагентов, значительные колебания значений контрольных показателей или невозможность лизиса красных кровяных клеток нормальной крови; в таком случае реагенты использовать не следует.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

ВНИМАНИЕ: Стабильность проб крови очень изменчива. Для оптимального прохождения лизиса начинайте анализ в течение 6 часов после венопункции. Непомеченная, предохраняемая от свёртывания кровь до начала процедуры должна храниться при температуре 15-30°C. Не охлаждайте.

Заберите венопункцией в асептических условиях пробу венозной крови в пробирку для забора крови, используя соответствующий антикоагулянт (рекомендуется ЭДТА).⁷ При использовании вакуумных пробирок для забора анализа, заполняйте их до соответствующего объёма, чтобы гарантировать правильное отношение антикоагулянта к крови (1,5 мг на mL крови). Для каждого теста требуется 100 µL цельной крови. Заберите у каждого пациента достаточно крови для проведения тестов и постановки контроля, и храните аутологичную плазму на случай необходимости разведения пробы. Подсчёт белых кровяных клеток и проверка жизнеспособности клеток должны быть проведены, следуя установленной лабораторной процедуре, для каждого образца венозной крови. Рекомендуемая жизнеспособность клеток – 90%, но её может быть сложно добиться в некоторых аномальных образцах.

ПРОЦЕДУРА ПОДГОТОВКИ ЛЕЙКОЦИТОВ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМЫ РЕАГЕНТОВ IMMUNOPREP

ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Система реагентов IMMUNOPREP Ч. № 7546946, для использования на рабочей станции COULTER Q-PREP Система реагентов IMMUNOPREP Ч. № 7546999, для использования на рабочих станциях COULTER MULTI-Q-PREP, COULTER TQ-Prep и на FP 1000

ТРЕБУЕМЫЕ, НО НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Рабочая станция COULTER Q-PREP
Рабочая станция COULTER MULTI-Q-PREP
Рабочая станция COULTER TQ-Prep, или
FP 1000

Реагент с моноклональными антителами
CYTO-STAT®/COULTER CLONE® или его эквивалент
Изотипический контроль или CYTO-STAT/
COULTER CLONE его эквивалент

Разбавитель (при необходимости) аутологичная плазма

Силицирующее средство для стеклянной посуды
тест-пробирки 12 x 75 мм

Пробирки для забора цельной крови с
антикоагулянтом (рекомендуется ЭДТА)

Пипетки для переноса

Микропипетки

Проточный цитометр

Счётчик клеток или гемацитометр

ПРОЦЕДУРА

1. Для каждой пробы промаркируйте тест-пробирки 12 x 75 мм для испытаний с моноклональными антителами и соответствующего изотипического контроля. За полным описанием реагентов, включая описание регулировки подсчёта клеток и периоды инкубации, обратитесь к соответствующему вкладышу в упаковке.
2. Отмерьте пипеткой 100 µL защищенной от свёртывания цельной крови на дно правильно маркированной тест-пробирки. Удостоверьтесь, что на внутренних стенках и крае пробирки нет следов крови.

ПРИМЕЧАНИЕ: Подсчёт белых кровяных клеток, выходящий за пределы 3000-10000 клеток/µL может потребовать особой обработки для подгонки концентраций клеток до необходимого уровня. Для разведения рекомендуется использовать аутологичную плазму. За рекомендуемыми концентрациями клеток обратитесь к вкладышу в упаковке реагента с моноклональными антителами.

ВАЖНО: Не разрушенные красные кровяные клетки на крае или стенках пробирки могут загрязнить пробу и исказить результаты. Для удаления остающихся на стенках пробирки каплей крови используйте ватную палочку.

3. Добавьте в 12 x 75 мм тест-пробирку 10 µL изотипического контроля, 10 µL моноклональных антител CYTO-STAT/ COULTER CLONE или требуемое количество антител по указаниям на вкладыше в упаковке реагента с моноклональными антителами. Перемешайте на вращательной мешалке.
4. Инкубируйте защищенную от свёртывания цельную кровь с антителом в течение примерно 10 минут при комнатной температуре (15-30°C). За точными инструкциями по инкубации обратитесь к вкладышу в упаковке реагента с моноклональными антителами.
5. До начала процедуры лизиса правильно проведите запуск в соответствии с указаниями производителя. За инструкциями обратитесь к руководству соответствующей рабочей станции. Перейдите к шагу 3 при использовании Q-PREP, шагу 7 при использовании MULTI-Q-PREP, шагу 8 при использовании рабочей станции TQ-Prep или шагу 11 при использовании FP 1000.

6. ТОЛЬКО ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ Q-PREP:

ПРИМЕЧАНИЕ: Для анализа проб на проточных цитометрах, измеряющих низкий угол светорассеяния вперёд (FALS), добавьте в пробирки с пробами 0,5 mL деионизированной или дистиллированной воды после удаления их из рабочей станции.

- a. Поместите тест-пробирку в прибор и нажмите кнопку 35 или 90-секундного цикла (CYCLE), в зависимости от использованного метода инкубации. Для запуска цикла закройте дверцу прибора. Перейдите к шагу 9.

7. ТОЛЬКО ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ MULTI-Q-PREP:

ПРИМЕЧАНИЕ: Для анализа проб на проточных цитометрах, измеряющих низкий угол светорассеяния вперёд (FALS), тумблер MULTI-Q-PREP должен находиться в положении "ON" (верхнее положение) для подачи деионизированной или дистиллированной воды. За деталями обратитесь к руководству по изделию MULTI-Q-PREP.

- a. Загрузите тест-пробирки в съёмное карусельное устройство по часовой стрелке. Поместите карусельное устройство в индексированное отделение MULTI-Q-PREP. Закройте крышку карусельного устройства.
- b. Для запуска автоматического анализа проб нажмите кнопку RUN. Перейдите к шагу 9.

8. ТОЛЬКО ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ TQ-Prep:

ПРИМЕЧАНИЕ: Для анализа проб на проточных цитометрах, измеряющих низкий угол светорассеяния вперёд (FALS), должен отображаться режим 4 реагентов TQ-Prep. За деталями обратитесь к руководству по рабочей станции TQ-Prep.

- a. Загрузите тест-пробирки в съёмное карусельное устройство по часовой стрелке. Поместите карусельное устройство в индексированное отделение TQ-Prep. Закройте крышку карусельного устройства.
- b. Для запуска автоматического анализа проб нажмите кнопку RUN. Перейдите к шагу 9.

9. Подготовленные пробы можно хранить при комнатной температуре (15-30°C), если анализ проточной цитометрией произойдёт в течение 2 часов. В противном случае накройте пробы и храните их в темноте при 2-8°C. Проанализируйте хранящиеся пробы в течение 24 часов.

10. Анализируйте подготовленные пробы в проточном цитометре. За инструкциями обратитесь к руководству к проточному цитометру.

11. ТОЛЬКО ДЛЯ ПОЛЬЗОВАТЕЛЕЙ FP 1000:

- a. Загрузите тест-пробирки в съёмное карусельное устройство по часовой стрелке. Поместите карусельное устройство в отделение FP 1000. За деталями обратитесь к руководству по изделию FP 1000.

ВАЖНО Комплект реагентов IMMUNOPREP должен быть смешан из одной партии перед запуском FP 1000. За деталями обратитесь к руководству по изделию FP 1000.

ПРИМЕЧАНИЕ: На проточных цитометрах, измеряющих низкий угол светорассеяния вперёд (FALS), может оказаться необходимым подогнать порог, коэффициент усиления рассеяния вперёд и высокое напряжение бокового рассеяния для выявления трёхчастного перепада.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Проверьте все пробы на лизис эритроцитов, рассматривая пробирки с пробами после обработки и оценивая гистограммы светорассеяния. Нелизировавшиеся пробы выглядят в пробирке мутными. Частично лизировавшиеся пробы будут содержать тяжелые или аномальные лейкоцитарные популяции светорассеяния. В качестве контроля системной проверки вместе с неизвестными пробами обрабатывайте и анализируйте пробу с известными значениями функциональных характеристик.

Для получения оптимальных результатов убедитесь, что проточный цитометр правильно выровнен и стандартизован для светорассеяния и интенсивности флуоресценции, и что выставлена компенсация цвета. За инструкциями обратитесь к руководству по изделию проточного цитометра.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Образцы данных на рисунках 1-4 были получены с использованием защищенной от свёртывания ЭДТА, нормальной пробы цельной крови, реагента с моноклональными антителами CYTO-STAT tetraCHROME™ CD45-FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC5 и системы реагентов IMMUNOPREP. Пробы анализировались на проточном цитометре EPICS™ XL-MCL™ с использованием изотонического раствора COULTER IsoFlow™.

Рисунок 1. Двухпараметрическая гистограмма SS к FS для идентификации лимфоцитов (Селектор А).

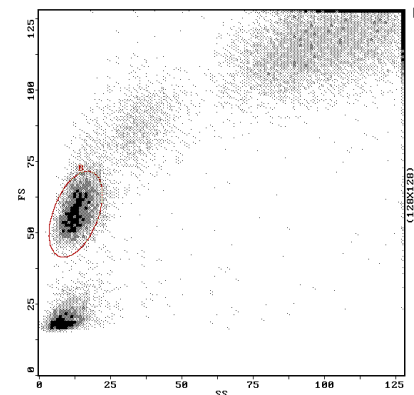


Рисунок 2. Двухпараметрическая гистограмма CD45-FITC к SS для идентификации лимфоцитов (Селектор А).

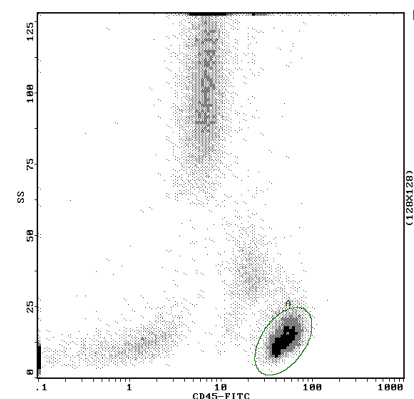


Рисунок 3. Двухпараметрическая гистограмма CD3-FITC к CD4-RD1 с использованием селектора лимфоцитов и Quad Stats, основанных на изотипическом контроле.

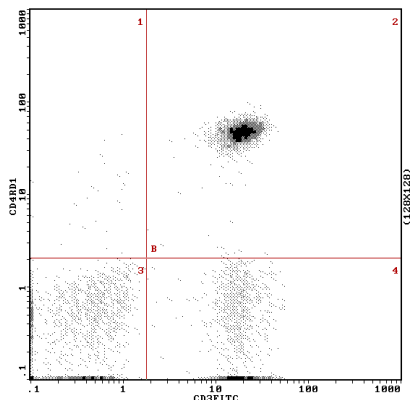
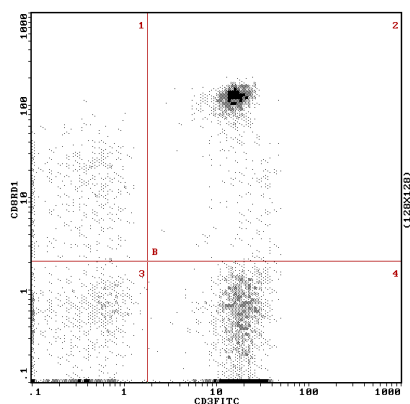


Рисунок 4. Двухпараметрическая гистограмма CD3-FITC к CD8-RD1 с использованием селектора лимфоцитов и Quad Stats, основанных на изотипическом контроле.



ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Реагенты следует использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке комплекта.
2. Данные основываются на нормальных пробах цельной крови.
3. Если проба кажется мутной, лизис не прошёл до конца. Проверьте правильность подачи и смешивания реагентов рабочей станцией. За процедурой гравиметрической калибровки обратитесь к руководствам по изделию Q-PREP, MULTI-Q-PREP, TQ-Prep или FP 1000.
4. NRBC (ядросодержащие эритроциты) могут не до конца лизироваться и оказаться включёнными в лейкоцитарные популяции светорассеяния.
5. Фактическое число тестов за комплект, которые можно провести в вашей лаборатории, может различаться в зависимости от рабочей нагрузки.

ПРИМЕЧАНИЕ: Только для пользователей MULTI-Q-PREP; следующие примеры дают предположительные ежедневные сценарии для разных лабораторий.

- Сценарий А: Малое использование, 2 пакета в день (прогонка 5 пробирок, затем ещё 5 пробирок по прошествии как минимум 30 минут)
- Сценарий В: Малое использование, 1 пакет в день (10 пробирок в одном пакете)
- Сценарий С: Значительное использование, 1 комплект в день (прогонка одного комплекта целиком или нескольких комплектов, без пауз)

Таблица 1 отражает среднее число тестов, заполнений и полных тестов на комплект с использованием системы реагентов IMMUNOPREP.

Тесты	А	В	С
ТАБЛИЦА 1 Использование по сценариям А, В и С			
ТЕСТЫ	269	289	321
ЗАПОЛНЕНИЯ*	52	29	1
ВСЕГО	321	318	322

*Указывает тесты, использованные рабочей станцией MULTI-Q-PREP после включения и после 30 минут простоя между карусельными устройствами. За полной инструкцией по эксплуатации обратитесь к руководству по изделию MULTI-Q-PREP.

ИСТОЧНИКИ

1. Rose NR and Friedman H, eds. 1980. Manual of clinical immunology, 2d edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
2. Guidelines for prophylaxis against pneumocystis carinii pneumonia for persons infected with human immunodeficiency virus. Center for Disease Control Morbidity and Mortality Weekly Report 38 (S-5):1-9.
3. Mishell BB and Shiigi AM. 1980. Selected methods in cellular immunology. San Francisco: WH Freeman and Co.
4. Caldwell CW and Taylor HM. 1986. A rapid no-wash technique for immunophenotypic analysis by flow cytometry. Am J Clin Path 86(5):600.
5. Barker JW. 1988. An innovative lymphocyte preparation system for flow cytometry. Am Clin Lab 7(7):32.
6. Kotylo PK, Baenzinger JC, Yoder MC, Engle WA and Bolinger CD. 1990. Rapid analysis of lymphocyte subsets in cord blood. Am J Clin Path 93(2):263-266.
7. Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, Approved Edition (H3). Clinical and Laboratory Standards Institute.

ФОРМА ДОСТАВКИ ПРОДУКТА

Система реагентов IMMUNOPREP Ч.№ 7546946
Система реагентов IMMUNOPREP Ч.№ 7546999

За дополнительной информацией или при получении повреждённой продукции обращайтесь в сервисный центр компании Beckman Coulter по телефону 800-526-7694 (в США или Канаде) или свяжитесь с локальным представителем компании Beckman Coulter.

ТОВАРНЫЕ ЗНАКИ

логотип Beckman Coulter, COULTER, COULTER CLONE, CYTO-STAT, EPICS, IMMUNOPREP, IsoFlow, MULTI-Q-PREP, Q-PREP, tetraCHROME, TQ-Prep и XL-MCL являются товарными знаками Beckman Coulter, Inc.

Система реагентов IMMUNOPREP продаётся по патентной лицензии 5.030.554.



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)

Printed in USA
Made in USA

© 2008 Beckman Coulter, Inc.
Все права защищены.