



## Vi-CELL BLU im Fast Mode

Mit dem Vi-CELL BLU wurde die Vi-CELL Zellanalysator-Familie um eine neue **Platereader**-Funktion erweitert. Dank der Plattenoption kann der Anwender das Gerät im kontinuierlichen Betrieb mit bis zu 96 Proben oder einer Kombination von Proben und Kontrollen beladen.

Die Bearbeitung einer so großen Zahl von Proben ist jedoch mit einer erheblichen Laufzeit verbunden, ca. 3 Stunden für eine ganze Mikrotiterplatte. Dies wirft Fragen auf, wie die, ob ein Gerät für eine so lange Zeit belegt werden kann oder ob es zu Vitalitätsveränderungen bei Zellen kommt, die außerhalb der Inkubatorumgebung nicht stabil genug sind. Um diese Bedenken auszuräumen, haben wir den Vi-CELL BLU mit einem optionalen Betriebsmodus „Schnell“ ausgestattet, der in Platten- wie auch Karussellkonfigurationen genutzt werden kann, um den Wechsel von einer Probe zur nächsten erheblich zu beschleunigen.

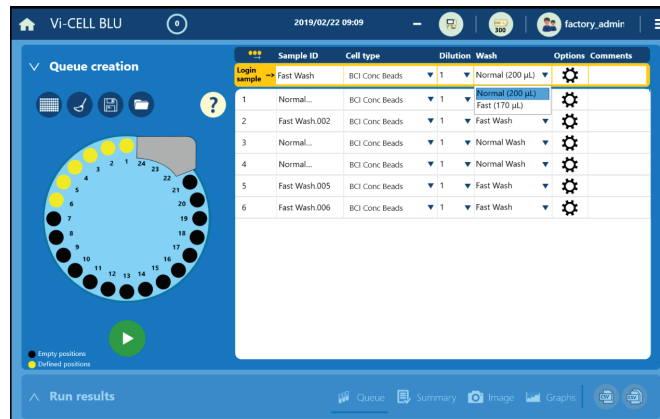
Waschmodus	Benötigtes Volumen	Probenbearbeitungsintervall, 100 Bilder, ca. $2 \times 10^6$ Zellen/ml (mm:ss)	Bearbeitungszeit vollständige Platte, 96 Proben, 100 Bilder, ca. $2 \times 10^6$ Zellen/ml (mm:ss)
Normal	200 µl	< 130 s Typische Analysedauer im Modus „Normal“: 110 s	Geschätzt: 3:28:00 Typisch: 2:56:00
Schnell	170 µl	< 90 s Typische Analysedauer: 80 s	Geschätzt: 2:24:00 Typisch: 2:08:00

Der Modus „Schnell“ verkürzt die Dauer des Waschzyklus so, dass ca. 30 % Probenbearbeitungszeit eingespart wird. Der Nachteil ist ein potenziell erhöhtes Risiko der Probenverschleppung, da weniger gründlich gewaschen wird als im Modus „Normal“. Dieser Nachteil kann bei bestimmten Probentypen und Laufzeiten in Kauf genommen werden.

Außerdem ist zu beachten, dass die Nutzung des Modus „Schnell“ über längere Zeit zu einer verstärkten Ablagerung von Trypanblau und proteinhaltigem Material im Schlauchsystem des Geräts führen kann, so dass regelmäßige Dekontaminationsläufe empfohlen werden.

## Einrichtung des Modus „Schnell“

Der Waschmodus kann bei der Probenprotokollierung konfiguriert oder in den Laufvoreinstellungen als Standard eingestellt werden. Er kann entweder über die Probeneinrichtungsleiste ausgewählt werden, damit mehrere Proben mit denselben Einstellungen protokolliert werden, oder er kann geändert werden, wenn die Probe in der Warteliste aufgeführt wird. Weitere Informationen sind der Gebrauchsanweisung zu entnehmen.



## Beurteilung der Verschleppung zwischen Läufen

Die grundlegende Vorgehensweise zur Beurteilung der Verschleppung besteht darin, Zellen-/Bead-Proben und Leerpufferproben entweder auf einer Platte oder im Karussell abwechselnd anzuordnen und entweder im Waschmodus „Normal“ oder „Schnell“ zu bearbeiten. Nachstehend ist ein Beispiel eines solchen Laufs dargestellt.

Proben-ID	Waschmodus	Probentyp	Zellzahl
...	...	...	...
Beads-L07-norm.015	Normal	L5-Beads	11903
Blanks-L07-norm.016	Normal	Leerprobe	21
Beads-L07-norm.017	Normal	L5-Beads	12061
Blanks-L07-norm.018	Normal	Leerprobe	5
Beads-L07-norm.019	Normal	L5-Beads	11444
Blanks-L07-norm.020	Normal	Leerprobe	26
Beads-L07-fast.001	Schnell	L5-Beads	11717
Blanks-L07-fast.002	Schnell	Leerprobe	24
Beads-L07-fast.003	Schnell	L5-Beads	11368
Blanks-L07-fast.004	Schnell	Leerprobe	28
...	...	...	...

Standard-Beads der Größe L5 (6602794 Charge 9012057F) wurden aufgrund ihrer Nenngröße und ihrer ungefähren Partikeldichte von ca.  $4 \times 10^6$  Beads/ml als allgemeine Kontrolle verwendet. Das Gerät wurde mit einem für L5-Beads konfigurierten Zellprofil auf Basis des Standardprofils für L10-Beads betrieben.

Der Standard-Zelltyp CHO wurde zur Prüfung auf Verschleppung bei biologischen Proben verwendet. Die absolute Konzentration lag bei etwa  $3 \times 10^6$  Zellen/ml; dies ist jedoch kein kritischer Parameter, da das Hauptaugenmerk der Prüfung auf dem Vergleich der Zellzahl der normalen und der Leerprouben liegt. Die Zellen wurden mit dem Standardprofil für den Säuger-Zelltyp analysiert.

Die Partikelkonzentration war hier nicht kritisch, wurde jedoch als Indikator für die erwartete Leistung herangezogen. Es wurde jeweils die Partikelanzahl von Probe und Leerprobe erfasst. Die Restverschleppung wurde anhand der Anzahl der in den Leerproben vorhandenen Beads bestimmt. Zusätzlich wurde eine Zufallsanalyse der aufgenommenen Bilder durchgeführt, um zu verifizieren, dass es sich bei den in den Leerproben erkannten Partikeln um Beads und nicht um andere Fremdkörper handelte.

Die Zählwerte der Leerproben schwanken stark, wie es bei der Analyse von Proben ohne Partikel zu erwarten ist. Dies führt zu gewissen Problemen bei den internen Berechnungen, so dass die durchschnittliche Partikelzahl der Parameter mit den geringsten Schwankungen ist.

## Ergebnisse

### Geräteeinstellungen für die Analyse

Zelltyp	BCI L5-Beads	Säuger
Minimaler Durchmesser (µm)	2	6
Maximaler Durchmesser (µm)	10	30
Bilder	100	100
Zellschärfe	22	7
Minimale Zirkularität	0,75	0,1
Decluster-Grad	Mittel	Mittel
Aspirationszyklen	3	3
Spothelligkeit lebensfähiger Zellen (%)	50	55
Spotfläche lebensfähiger Zellen (%)	1	5
Mischzyklen	3	3

Nachstehend sind die Ergebnisse aus mehreren Läufen sowohl mit Karussell- als auch mit Plattenbeladung aufgeführt. Die Daten sind als gepaarte Ergebnisse dargestellt und geben den durchschnittlichen Zählwert der Proben und den zwischen den Proben erfassten durchschnittlichen Verschleppungszählwert an.

### L5-Beads

Lauf	Waschmodus	Zählwert L5-Beads	Zählwert Bead-Verschleppung	% Verschleppung	Anz. Probenpaare
1	Normal	10629	108	1,01 %	20
2	Normal	11784	11	0,10 %	26
3	Normal	11414	164	1,44 %	60
4	Normal	11862	236	1,99 %	60
5	Normal	11326	161	1,42 %	40
1	Schnell	9392	226	2,40 %	20
2	Schnell	11147	38	0,34 %	54

## CHO-Zellen

Lauf	Waschmodus	Zellzahl CHO	Zellzahl Verschleppung	% Verschleppung	Anz. Probenpaare
1	Normal	3939	3	0,07 %	38
2	Normal	5546	9	0,16 %	48
3	Normal	7986	3	0,04 %	26
4	Normal	5310	27	0,51 %	24
1	Schnell	3952	5	0,13 %	38
2	Schnell	5281	23	0,44 %	36
3	Schnell	8595	21	0,24 %	24

## Schlussfolgerungen

Ein t-Test mit den Bead-Restzahlen für den Waschmodus „Normal“ und „Schnell“ ergab einen p-Wert von 0,986, was bedeutet, dass im Hinblick auf die Probenverschleppung kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Waschmodi besteht. Das Gerät kann somit in beiden Modi mit der Sicherheit betrieben werden, dass die Probenverschleppung vernachlässigbar ist.

Der Variabilitätsgrad bei den Leerproben kann zwar extrem hoch sein, da so wenige Partikel gezählt werden, doch die prozentuale Verschleppung lag in allen Testfällen stets deutlich unter 1 %.