



Bewertung der Leistung des Vi-CELL BLU Zellvitalitätsanalysator bei der Nutzung mehrerer Geräte

Beckman Coulter Life Sciences freut sich, Ihnen den neuen Vi-CELL BLU Zellvitalitätsanalysator vorzustellen. Der Vi-CELL BLU baut auf den zentralen Leistungsmerkmalen des Vi-CELL XR auf, wurde aber um viele Designverbesserungen ergänzt, die sich unsere Kunden im Laufe der Jahre gewünscht haben.

Die automatische Zellzählung erscheint auf den ersten Blick als einfaches Unterfangen, die Leistung wird jedoch von verschiedenen Bedingungen und Variablen beeinflusst, die sowohl mit der Probe als auch mit dem Gerät zusammenhängen. Deshalb muss sichergestellt werden, dass das Gerät spezifikationsgemäß arbeitet, so dass gerätebedingte Schwankungen bei den Probenmessungen ausgeschlossen sind. Dies gestaltet sich allerdings schwieriger, wenn in einer Abteilung mehrere Geräte betrieben werden, da eine Variabilität zwischen den Geräten möglich ist.

Eine der entscheidenden Stärken des Vi-CELL BLU ist die Möglichkeit, die Leistung so abzustimmen, dass die Variabilität zwischen verschiedenen Geräten minimiert wird. Dies ist besonders in Einrichtungen von Vorteil, die mehrere Geräte im Einsatz haben, aber auch, wenn Geräte gelegentlich von anderen Abteilungen mitgenutzt werden.

Da das Haupteinsatzgebiet der Vi-CELL Geräte regulierte und GMP-Fertigungsumgebungen sind, ist eine akzeptable geräteübergreifende Leistung des neuen Vi-CELL BLU von entscheidender Bedeutung. Die folgenden Informationen und Daten aus einem Vergleich mehrerer Geräte anhand einer Reihe von standardisierten Testproben zeigen, dass mit dem Vi-CELL BLU die geräteübergreifende Variabilität verbessert wurde.



Abbildung 1: Der neue Vi-CELL BLU Zellvitalitätsanalysator

Vergleich der Zählraten bei Beads und Zellen

Verwendete Probenmaterialien

6602796 (Charge 9747455F) Coulter CC L10 Standard, nominal 10 µm, Latex Particle (NIST Traceable), 1 × 15 ml

Zelltyp-Profil: BCI L10-Beads

Geräteeinstellungen für die Bead-Analyse

Zelltyp-Profil	BCI L10-Beads
Minimaler Durchmesser (µm)	5
Maximaler Durchmesser (µm)	15
Bilder	100
Zellschärfe	22
Minimale Zirkularität	0,5
Decluster-Grad	Mittel
Aspirationszyklen	3
Spothelligkeit lebensfähiger Zellen (%)	50
Spotfläche lebensfähiger Zellen (%)	1
Mischzyklen	3

Der Durchschnitt von 24 Proben je Verdünnung wurde auf einer Mikrotiterplatte erfasst.

Der Durchschnitt von 20 Läufen je Probe wurde erfasst und als Durchschnitt ± Standardabweichung der Ergebnisse angegeben. Die Geräteeinstellungen sind unten aufgeführt.

Ergebnisse der Kontroll-Beads

Probentyp: Kontroll-Beads Größe L10 (3 Geräte mit Replikatplatten)

Gerät	Verdünnungen	Durchschnittliche Bead-Zahl	% VK der Bead-Zahl	Durchschnittliche Konzentration ($\times 10^6$) Beads/ml	% VK gesamt ($\times 10^6$) Beads/ml	Durchschnittlicher Durchmesser (µm)	% VK des Durchmessers	Anz. Proben
A	100 %	5501	3,45 %	2,08	3,03 %	10,40	0,16 %	24
	50 %	2881	3,32 %	2,17	3,31 %	10,41	0,18 %	24
	25 %	1468	2,83 %	2,21	2,85 %	10,42	0,24 %	24
	5 %	303	4,54 %	2,28	4,59 %	10,43	0,55 %	24
B	100 %	5666	4,18 %	2,12	4,18 %	10,31	0,13 %	24
	50 %	3011	1,83 %	2,25	1,88 %	10,32	0,16 %	24
	25 %	1501	2,70 %	2,25	2,64 %	10,33	0,18 %	24
	5 %	316	6,35 %	2,37	6,32 %	10,34	0,50 %	24
C	100 %	5906	2,97 %	2,13	2,98 %	10,37	0,14 %	24
	50 %	3054	3,08 %	2,21	2,76 %	10,39	0,12 %	24
	25 %	1515	2,33 %	2,19	2,27 %	10,38	0,26 %	24
	5 %	314	6,60 %	2,27	6,52 %	10,40	0,52 %	24

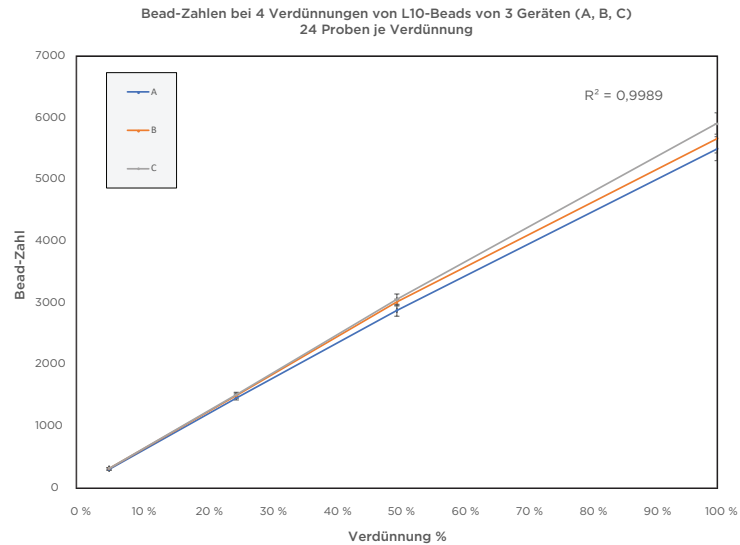


Abbildung 2:

Analyse der Zellzählung

Neben Standard-Beads wurden auch verschiedene Standard-Kulturzellen zum Vergleich der Geräte herangezogen. Die Zellen wurden gemäß NIST-Verdünnungsprotokoll (Evaluating the quality of a cell counting measurement process via a dilution series experimental design. Sarkar, Sumona et al. (2017) Cytotherapy, Volume 19, Issue 12 1509–1521) vorbereitet. Einige Zellen wurden ohne Verdünnung mit den Standardprotokollen für den jeweiligen Zelltyp analysiert. Die Zelltypparameter für die Protokolle sind nachstehend aufgeführt.

Geräteeinstellungen für die Zellkultur-Analyse

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

Ergebnisse der Zellzählung

Es wurde ein Verdünnungsprotokoll mit einer 8-maligen seriellen Verdünnung von CHO-Zellen erstellt, um die Zellzähleistung in verschiedenen Konzentrationsbereichen zu testen. Im niedrigen Konzentrationsbereich wurden 3 Replikatplatten auf 3 Vi-CELL BLU Geräten analysiert. Im hohen Konzentrationsbereich wurden aufgrund der eingeschränkten Probenverfügbarkeit 3 Probenreplikatreihen von 10 Röhren je Verdünnung auf dem Karussell analysiert.

Verdünnung	Nennkonzentration ($\times 10^6$) Zellen/ml
100 %	5,50
80 %	4,40
60 %	3,30
50 %	2,75
40 %	2,20
30 %	1,65
20 %	1,10
10 %	0,55

Gerät	Verdünnungen (n = 12)	Durchschnittliche Zellzahl	% VK der Zellzahl	Durchschnittliche Konzentration ($\times 10^6$) Zellen/ml	% VK gesamt ($\times 10^6$) Zellen/ml	Durchschnittliche Vitalität (%)	% VK der Vitalität (%)	Anz. Proben
B01	100 %	14524	2,51 %	5,47	2,50 %	63,97	1,69 %	12
	80 %	11099	2,79 %	4,18	2,78 %	64,77	0,70 %	12
	60 %	8528	4,15 %	3,21	4,10 %	64,39	1,28 %	12
	50 %	6848	2,81 %	2,58	2,72 %	64,33	1,20 %	12
	40 %	5795	9,84 %	2,18	9,83 %	61,93	2,22 %	12
	30 %	3960	2,93 %	1,49	2,82 %	62,07	1,33 %	12
	20 %	2617	4,71 %	0,99	4,63 %	60,88	2,10 %	12
	10 %	1185	4,25 %	0,45	4,14 %	58,41	3,49 %	12
B02	100 %	14736	3,44 %	5,52	3,43 %	65,81	1,17 %	12
	80 %	11535	3,62 %	4,32	3,60 %	64,58	0,79 %	12
	60 %	8479	2,27 %	3,17	2,27 %	65,79	1,15 %	12
	50 %	7087	3,94 %	2,65	3,92 %	64,50	1,36 %	12
	40 %	5547	3,31 %	2,08	3,32 %	62,36	1,22 %	12
	30 %	4234	7,24 %	1,59	7,19 %	64,33	1,68 %	12
	20 %	2820	6,27 %	1,06	6,33 %	61,88	1,87 %	12
	10 %	1250	6,55 %	0,47	6,42 %	58,28	3,70 %	12
B03	100 %	14999	2,24 %	5,42	2,34 %	65,50	1,16 %	12
	80 %	11834	2,39 %	4,27	2,40 %	64,80	0,94 %	12
	60 %	8776	1,91 %	3,17	1,88 %	65,51	0,91 %	12
	50 %	7281	2,78 %	2,63	2,79 %	64,40	1,48 %	12
	40 %	5658	3,12 %	2,04	3,11 %	61,48	1,13 %	12
	30 %	4138	4,71 %	1,49	4,74 %	62,58	2,08 %	12
	20 %	2644	4,10 %	0,96	3,93 %	60,79	1,91 %	12
	10 %	1237	4,25 %	0,45	4,14 %	58,36	3,81 %	12

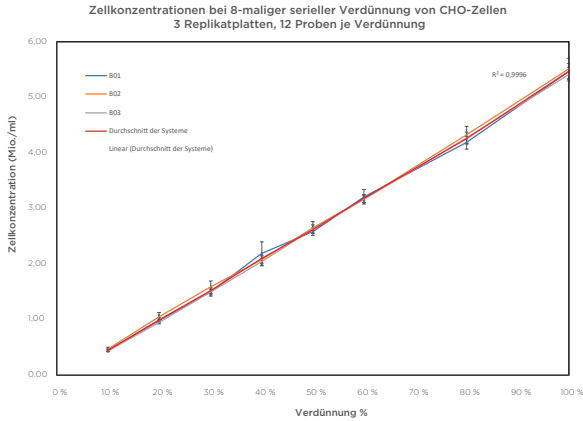


Abbildung 3

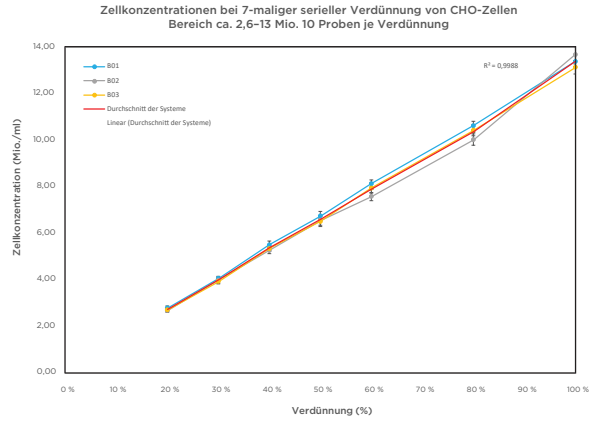


Abbildung 4

Zur Bestätigung der Geräteleistung wurden zusätzliche Probenplatten mit einer kleineren Auswahl von Verdünnungen sowohl auf Platten als auch auf dem Karussell analysiert.

Die Plattenläufe wurden innerhalb von 16 Stunden 3-mal mit Proben aus demselben Zellbestand auf demselben Gerät wiederholt. Die Zunahme der Zellpopulation in diesem Zeitraum kann als minimal betrachtet werden und das Ausgangsmaterial für die Analyse ist praktisch dasselbe.

Es wurden drei Platten in Dreifachbestimmung auf 3 verschiedenen Vi-CELL BLU Geräten analysiert (insgesamt 9 Platten, n = 864 Proben). Die nachstehenden Daten stellen die 3 Läufe eines einzelnen Geräts dar.

Die in diesen Läufen gemessenen Daten wurden einer ANOVA-Analyse unterzogen, um den Grad der Variabilität zwischen den Läufen und zwischen den Probenreplikaten innerhalb desselben Laufs zu bestimmen. Die Ergebnisse zeigen über alle Läufe und Geräte keine statistisch signifikante Schwankung (p -Wert > 90). Die Daten werden als durchschnittliche Zellkonzentrationen und Vitalität für alle Konzentrationen angegeben.

Verdünnung	Nennkonzentration ($\times 10^6$) Zellen/ml
100 %	2
50 %	1
25 %	0,5
10 %	0,2

Gerät	Platte	Durchschnittliche Konzentration ($\times 10^6$) Zellen/ml	% VK gesamt ($\times 10^6$) Zellen/ml	Durchschnittliche Vitalität (%)	% VK der Vitalität (%)
A	1	1,86	1,52 %	92,40	0,004 %
	2	1,71	1,11 %	88,70	0,012 %
	3	1,81	1,41 %	85,57	0,038 %
B	1	1,85	0,78 %	92,54	0,008 %
	2	1,72	0,86 %	89,39	0,007 %
	3	1,82	1,06 %	85,64	0,014 %
C	1	1,87	1,87 %	92,40	0,010 %
	2	1,67	1,98 %	88,39	0,011 %
	3	1,69	2,04 %	85,53	0,019 %

Die nachstehenden Diagramme zeigen die Durchschnittswerte jedes Geräts für jede Verdünnung über alle 3 Replikate.

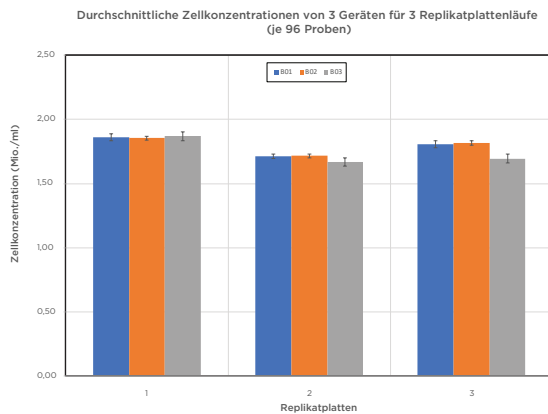


Abbildung 5

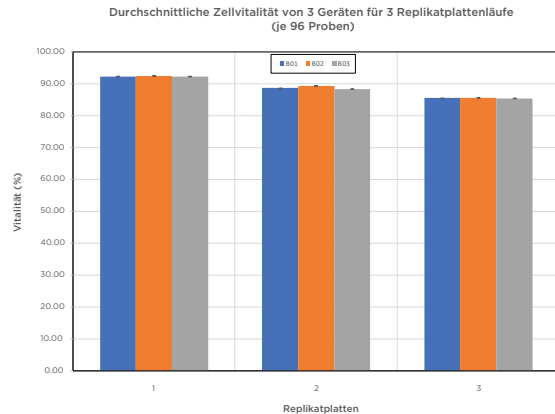


Abbildung 6

Ergebnisse

Die Zählleistung des Vi-CELL BLU zeigt eine ausgezeichnete Linearität über mehrere Verdünnungen. Wie erwartet ist die Variabilität bei Zellzahlen unter 0,5 Mio. Zellen/ml höher, da insgesamt weniger Zellen pro Bild vorhanden sind. Dennoch liegt die Variabilität auch dann innerhalb der zulässigen Grenzen (10 %) für die Geräteleistung. Bei Verwendung von Standard-Beads der Größe L10 ist die Variabilität der Zellzahlen aufgrund der gleichmäßigeren Beschaffenheit des Probenmaterials deutlich geringer.

Bei den Probenreplikaten von 3 Geräten ist konsistent kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Replikaten gleichwertiger Proben zu erkennen, was belegt, dass die Geräte bei allen analysierten Proben eine gleichwertige Leistung erreichen.