

«Утверждаю»

Генеральный директор
ООО ««Эко-мед-с М»



Ворошилов Н.А.
«26» апреля 2010г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Система диагностическая проточной цитометрии CyFlow Counter с принадлежностями

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
3. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ
4. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ
5. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

2010 г.

Содержание

Содержание	2
Предисловие	3
Теория	4
Введение в проточную цитометрию	4
Проточная кювета и световые сигналы	4
Настройка оптического стандарта – Параметры и фильтры	5
Действительный объемный абсолютный счет	7
Традиционные приточно-цитометрические методики для абсолютного счета	7
Эксплуатация	9
Процедура ежедневного запуска	9
Выполнение замера	11
Процедура ежедневного останова	12
Подробное описание программного обеспечения: CyView	13
Меню программного обеспечения	13
Сенсорная панель	16
Клавиатура	16
Внешняя мышь и клавиатура	16
Функции программного обеспечения	17
Config-Script	17
Measure-Script	17
Regions	17
Пусковое устройство/L-L	18
Коэффициент усиления	19
Скорость образца	19
Сохранение	20
Распечатка	20
Устранение неисправностей	21
Что делать, если	21
Необходимая очистка проточной кюветы	21
Приложение	22
Требования к установке	22
Настройка счетчика CyFlow®	22
Основные схемы подключения	22
Техническое обеспечение и обслуживание	23
Техническое обеспечение	23
Обслуживание	23
Транспортировка и хранение	23
Утилизация	23
Безопасность при работе с лазерами	24
Счетчик CyFlow® – Технические условия	25

Для инвитро диагностики использовать с прибором Partec рекомендованные инвитро реагенты.

Проточный цитометр счетчика Partec CyFlow® соответствует европейской Директиве инвитро диагностики 98/79/ЕС и, таким образом, маркируется значком СЕ.

© 2008 Partec GmbH
Otto-Hahn-Str. 32
48161 Münster
Germany

Рев. 001 Дата 2008-03-25

Предисловие

Счетчик CyFlow® представляет собой Систему для проточной цитометрии (FCM) компании Partec. Он оборудован зеленым (532 нм) твердотельным лазером и тремя оптическими параметрами для обнаружения бокового рассеивания (SSC), оранжевыми (FL2) и красными (FL3) флуоресцентными сигналами. Прибор предназначен для контроля иммунного состояния больных ВИЧ и СПИДОМ (контроль ВИЧ). Он предлагает возможность абсолютного счета положительных Т-клеток CD4 (CD4+), определения Т-клеток CD4+ среди лимфоцитов (CD4%) и абсолютных величин Т-клеток CD3+ и CD8+. Определение процентного содержания CD4 согласно Всемирной Организации Здравоохранения (WHO) является клинически соотнесенным параметром для определения возникновения высокоактивной антиретровирусной терапии у детей.

Руководство по эксплуатации счетчика CyFlow® дает краткий обзор метода проточной цитометрии и физических явлений. Для дальнейшей подробной информации просьба обращаться к литературе (например, Говард М. Шапиро: Практическая проточная цитометрия, Уайли, 2002). В других главах дается пояснение эксплуатации и предоставляется дальнейшая подробная информация о программном обеспечении.

Для более подробной информации о комплектах реагентов, пригодных для использования со счетчиком CyFlow®, просьба обращаться к соответствующим спецификациям. Имеется также несколько Указаний по применению.

Если у вас возникают вопросы, просьба обращаться к вашему местному дистрибутору, одной из дочерних компаний фирмы Partec или самой компании Partec в Германии. Дальнейшую подробную информацию и адреса можно найти на нашем веб-сайте по ссылке:

www.partec.com/distributors

supportcenter@partec.com

Каждый запрос должен сопровождаться следующей информацией:

- Серийный номер счетчика CyFlow®
- Ваш полный контактный адрес

Теория

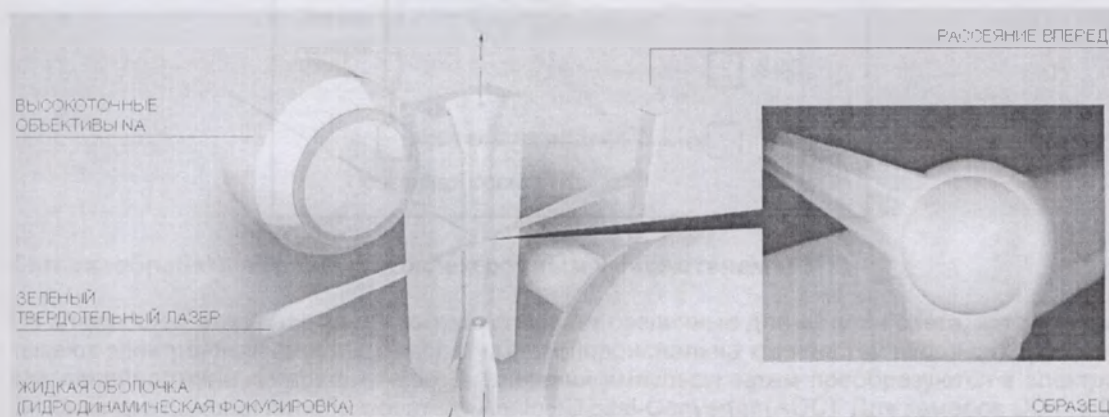
Введение в проточную цитометрию

Термин Проточная Цитометрия описывает методику для анализа клеток - или частиц - в водной суспензии, которая в настоящее время используется регулярно. Клетки или другие биологические частицы проходят в текучий, одиночный поток клеток с помощью измерительной аппаратуры. В наиболее распространенных сценариях, один или несколько лазеров опрашивают каждую частицу и, как минимум, система замеряет степень и направление рассеянного света - показатели размера частиц, форм и структуры. Если частицы были окрашены одной или несколькими флуоресцентными красками - известными как флюорохромы - источник света побуждает эти краски предоставить дополнительную биологическую информацию о каждой частице, такую как наличие специфических маркеров клеточной поверхности. Уникальное преимущество Проточной Цитометрии заключается в том, что она может быстро и количественно замерять множество одновременных параметров отдельных живых клеток.

Проточная кювета и световые сигналы

1. Проточная кювета

Основным элементом проточного цитометра счетчика CyFlow® является проточная кювета. Она выполнена из кварцевого стекла, которое состоит из капилляров диаметром 200 x 350 μm .



2. Струйная автоматика

Жидкостная система проточного цитометра используется для транспортировки частиц из суспензии произвольного трехмерного образца подвески на упорядоченный поток частиц, движущихся за одним или более лучей подсветки. Жидкостная система использует регулирование давления воздуха в целях обеспечения стабильной работы и состоит из линии жидкой оболочки и пробоотборной линии, водимых в проточную кювету. Так как образец поступает поток в камеру проточной кюветы, наружная, быстро текущая жидкая оболочка, гидродинамическим способом фокусирует эту жидкую оболочку в узкой активной зоне в пределах струи и представляет одиночный блок частиц на источники возбуждения. Эта геометрия обеспечивает повышенную точность позиционирования в точке опроса лазера для последовательного излучения возбуждения и значительно сокращенной блокировки частиц проточной кюветы.

3. Рассеивающие сигналы

Ячейки счетчика CyFlow® проходят одиночный блок с помощью лазерного луча, сосредоточенного на капилляре. Это приводит к рассеянию света, предоставляющего информацию о различных клеточных характеристиках. Интенсивность вперед рассеянного света (FSC) согласуется с размером клетки. Более мелкие клетки вырабатывают более слабый сигнал, а более крупные клетки вырабатывают более сильный сигнал. Свет бокового рассеивания (боковое рассеивание, SSC) излучается по углом 90°, и дает информацию о "зернистости" клетки. Клетки с высокой зернистостью вырабатывают более сильный сигнал в SSC. Это происходит из-за высокой степени преломления зерен.

4. Флуоресцентные сигналы

Флуоресценция происходит, когда молекула, возбужденная светом одной длиной волны, возвращается к пониженному состоянию путем излучения свете большей длиной волны. Клетки могут распределяться по подтипам путем выбора конкретных эпитопных антител отмеченных флюорохромом.

Настройка оптического стандарта – Параметры и фильтры

Счетчик CyFlow® оснащен тремя оптическими параметрами для выявления бокового рассеянного света (SSC), оранжевой (FL2) и красной флуоресценцией (FL3). Боковой рассеянный свет и флуоресцентный свет собираются с помощью микроскопического объектива под углом 90°. Затем свет подразделяется на различные длины волн с помощью оптических фильтров (см. рис. ниже).



1. Сигнал, обрабатываемый фотоэлектронным умножителем (PMT)

На следующем этапе, фотоумножитель собирает различные длины волн света, которые вырабатывают электронный импульс. Амплитуда пропорциональна количеству входящих фотонов. После линейного или логарифмического усиления импульсы затем преобразуются в электронные сигналы при помощи преобразователя Analog/Digital-Converter (ADC). Для замеров CD4- и CD4%, применяется только логарифмическое усиление. Так как интересующая частица проходит через фокус, флуоресцирует и обнаруживается фотодетектором, электрический импульс вырабатывается и подается на обработку сигнала электроникой. Прибор срабатывает, когда этот сигнал превышает заданный пороговый уровень. Порог, в основном, используется для отбраковки событий, не связанных с частицами, таких как инородные вещества или помехи от оптических и электронных источников.

2. Оптический фильтр

Оптический фильтр позволяет только передавать определенную длину волны, в то время как остальной свет поглощается. Различаются три типа фильтров:

а. Полосовой фильтр

Позволяет передавать свет в пределах небольшого диапазона длины волны.

б. Длинный фильтр

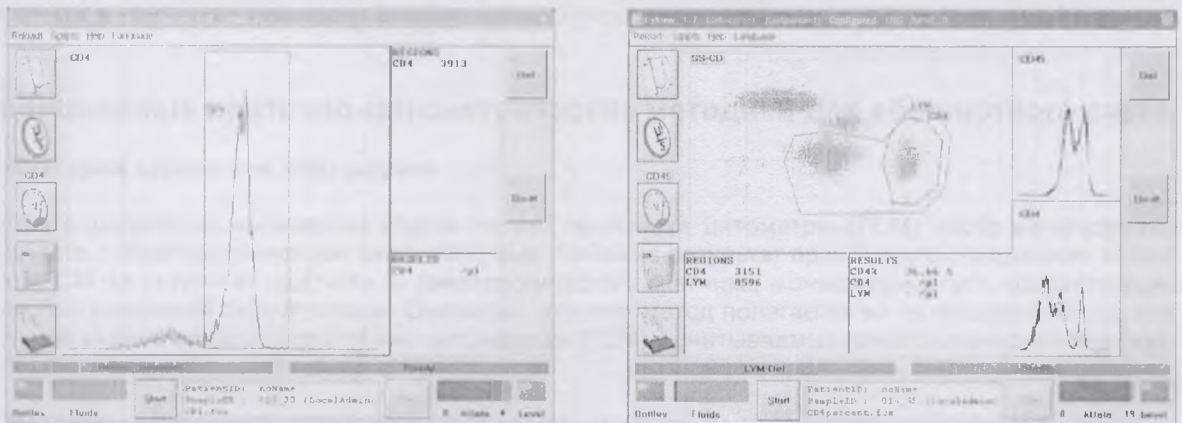
Позволяет передавать свет в пределах выше определенной длины волны.

с. Короткий фильтр

Позволяет передавать свет в пределах ниже определенной длины волны.

3. Отображение замера

Данные отображаются либо на гистограмме 1-Parameter (CD4), либо на точечном плане 2-Parameter (CD4%).



4. Коэффициент усиления

Коэффициент усиления это замер усиления, применяемого для сигнала. В проточной цитометрии это происходит в период между первоначальным обнаружением светового импульса и окончательным выводом, что хранится в памяти в виде канала, на аналогово-цифровом преобразователе. Для слабого светового импульса, коэффициент усиления может увеличиваться за счет использования усилителя, увеличивающего электрический сигнала после того, как он выходит из фотодетектора, или он может увеличиваться путем изменения напряжения непосредственно на фотоумножителе (Для практической информации см. также главу "Коэффициент усиления").

5. Зоны и затворы

Зоны наносятся для определения определенной клеточной популяции. На гистограмме 1-Parameter это выполняется путем настройки диапазона (Range) а на точечном плане 2-Parameter используется многоугольник (Для практической информации см. также главу "Зоны"). Затвор представляет собой ограничение, устанавливаемое на проточно-цитометрических данных, которые будут включены в последующий анализ.

6. Флуоресцентное окрашивание

Для дальнейшего описания клеток, они часто отмеченные флуоресцентного маркера. Лейкоциты могут быть обнаруживаться в субпопуляциях благодаря CD-маркерам (CD: дифференцировочный кластер). Для этого используются определенные антитела, которые распознают конкретный эпитоп на интересующие клетки. Вследствие связи между антителами и конкретным флуоресцентным красителем (например, R-PE: фикоэритрин) клетка, которая несет в себе антитело на своей поверхности, излучает оранжевый флуоресцентный свет после возбуждения лазером 532 нм. Этот флуоресцентный свет обнаруживается в канале FL2 счетчика CyFlow®, и назначается для определенной клетки.

Действительный объемный абсолютный счет

Определение количества клеток или субпопуляции клеток, также называемое Абсолютным счетом, может представлять значительный интерес для медицинской диагностики или мониторинга состояния клеток в клеточных культурах или биотехнологических процессах.

Традиционные проточно-цитометрические методики для абсолютного счета

1. Методика сдвоенной платформы

Для определения количества клеток на мл, проточные цитометры (FCM) часто используются вместе с гематологическими анализаторами. Умножив результат процентного содержания клеток от FCM на результат подсчета от гематологического счетчика, можно определить концентрацию любой клеточной субпопуляции. Очевидно, что этот метод полагается на то предположение, что число клеток, видимых проточным цитометром (FCM) и считываемых гематологическим анализатором, является идентичным.

2. Методика одиночной платформы с эталонными бусинами

Еще один способ анализа концентрации клеток с одним проточным цитометром (FCM) заключается в добавлении микро-бусин с "известным" номером или концентрацией в клеточную суспензию. Посредством сравнения количества клеток с количеством бусин, можно рассчитать концентрацию клеток. Еще одна вариация этого метода использует бусины "известной" концентрации для повторной калибровки жидкостной системы время от времени. Этот метод, однако, зависит от точности указанной концентрации бусин.

3. Действительный объемный абсолютный счет (TVAC) прибора Partec

Для преодоления препятствий методики сдвоенной и традиционной одиночной платформы, приборы Partec предлагают альтернативный способ абсолютного счета клеток, который основывается непосредственно на базовом определении концентрации c

$$c = N / V$$

по точному расчету числа N клеток, подвешенных в чисто механически определенном объеме V .

а. Точный счет: определение N

Для точного действительного объемного счета, точный подсчет количества N клеток, имеет важное значение. Он требует быстрого распознавания и анализа событий, как электроникой, так и компьютером. Все приборы Partec специально предназначены для минимизации подсчета убытков, обеспечивая непосредственную связь между компьютером и электроникой, что позволяет избежать время запаздывания, имеющее место в традиционной конструкции проточных цитометров (FCM) и интерфейсах приборов. Системы Partec могут обрабатывать события с частотой до 15000 событий в секунду. Это уменьшает вероятность потери подсчета при частоте событий ниже 2%.

б. Принцип электрода: определение V

Метод действительного объемного абсолютного счета, поддерживаемый счетчиком CyFlow®, основывается на точном измерении фиксированного контрольного объема с помощью двух электродов.

Во время анализа проточным цитометром (FCM), в определенное время образец отключается от верхних электродов, создавая тем самым цифровой сигнал ПУСК для подсчета. Отключение от нижних электродов вырабатывает сигнал СТОП. Объем V в образце, анализируемый между сигналами ПУСК и СТОП, физически определяется расстоянием между двумя электродами и диаметром пробоотборной трубки. Действие мениска образца в трубке, отключаемое от электродов только через определенное время после прохождения уровня образца, устраняется: оно происходит для состояния ПУСК и СТОП аналогичным образом, так как электроды ПУСК и СТОП, расположены симметрично. Проводимость образца не влияет на меру объема до тех пор, пока жидкость может обнаруживаться электрически.

В некоторых случаях, большие или меньшие объемы подсчета V являются предпочтительными, либо для улучшения статистики подсчета (например, для редких событий < 10/ml), или для уменьшения времени анализа. Это может достигаться путем замены стандартного 200 µl порта для объемного образца другим с отличительным объемом.



Эксплуатация

Процедура ежедневного запуска

1. ЗАЩИТНАЯ и СТОЧНАЯ пробирки

Убедиться, что защитная пробирка заполнена жидкой оболочкой (код Partec No. 04-4007), а синяя резьбовая крышка плотно закрыта. Наклонить защитную пробирку для того, чтобы выпустить пузырьки воздуха, захваченные под белым встроенным фильтрующим элементом. Сточная пробирка должна быть пустой, а красная крышка плотно закрыта.

Примечание: При слабых настройках технических средств, компания Partec рекомендует использование производственного комплекта жидкой оболочки (код Partec No. 04-4020) для приготовления доброкачественной жидкой оболочки.

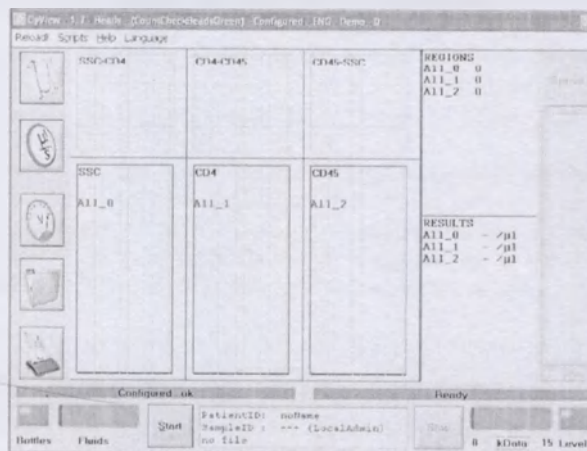
2. Включение прибора

Счетчик CyFlow® работает от источника питания 240 В постоянного тока. Включить питание на задней стенке прибора, а затем нажать зеленую кнопку слева от логотипа Partec, расположенного спереди.

3. Комплектация программным обеспечением CyView

Программное обеспечение CyView запускается автоматически после загрузки компьютера. Затем следует выбрать Config-Script и Measure-Script (см: Выполнение замера) для различных анализов (анализ с зелеными бусинами для проверки подсчета, CD4 или CD4%).

- Загрузить Config-Script: Scripts → Load Config-Script → CountCheckBeadsGreen
- Соответствующий раздел замера Measure-Script выбирается автоматически.



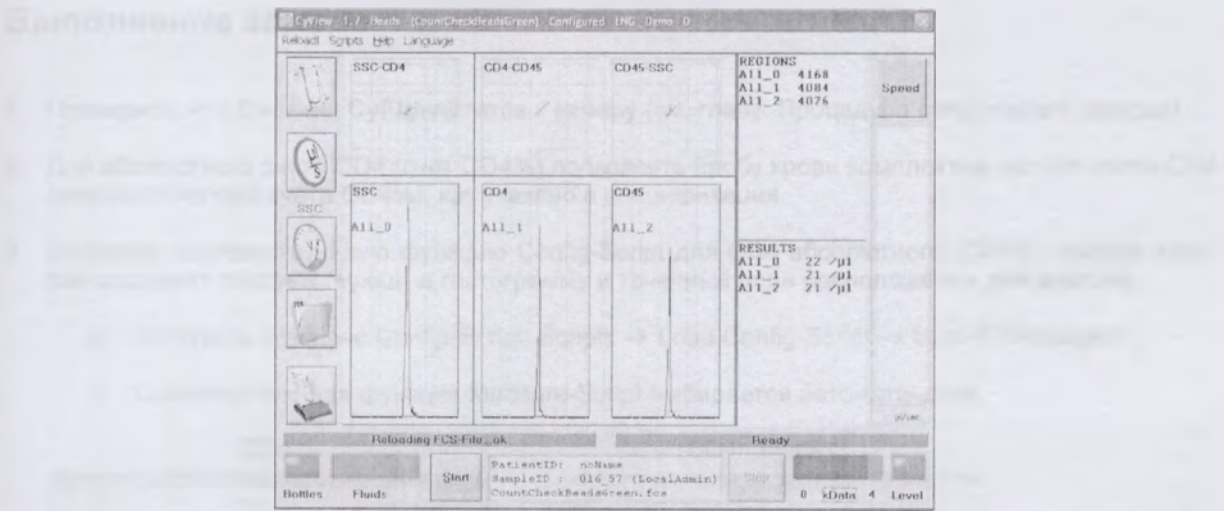
4. Очистка

Вставить пробоотборную трубку с 1.6 мл Очищающего раствора (код Partec No. 04-4009) в пробоотборный порт. Нажать кнопку Start для выполнения замера. Подождать, пока процедура замера и последовательной очистки не завершится автоматически.

Повторить это с 1.6 мл Жидкой оболочки (код Partec No. 04-4007) для удаления остатков Очищающего раствора.

5. Контроль качества

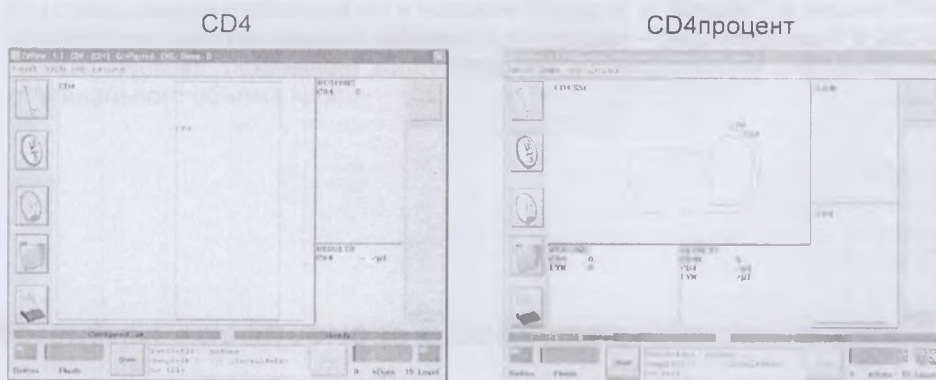
Вставить пробоотборную трубку с 850 µl Зелеными бусинами для проверки подсчета (код Partec No. 05-4011) в пробоотборный порт и нажать кнопку Start для выполнения замера. Подождать, пока процедура замера и последовательной очистки не завершится автоматически. Данные сохраняются в памяти и распечатываются по запросу.



Результат замера с Зелеными бусинами для проверки подсчета указывается в ячейке Results. Сравнить со специальным номером партии, указанным на пробирке и проверить, находится ли результат подсчета ALL_1 в пределах 10% диапазона. Если да, то тогда счетчик CyFlow Counter® готов для дальнейшего анализа. Если нет, то тщательно встряхнуть пробирку и повторить замер (см. также главу: Устранение неисправностей).

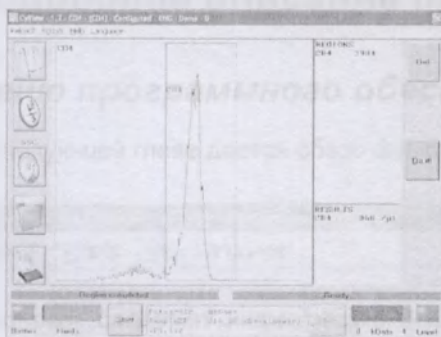
Выполнение замера

1. Проверить, что Счетчик CyFlow® готов к замеру (см. главу: Процедура ежедневного запуска).
2. Для абсолютного счета CD4 (счет CD4%) подкрасить пробу крови комплектом легкого счета CD4 (комплект легкого счета CD4%), как указано в спецификации.
3. Загрузить соответствующую функцию Config-Script для CD4 абсолютного (CD4%) замера, которая содержит соответствующую гистограмму и точечный план расположения для анализа.
 - a. Загрузить функцию Config-Script: Scripts → Load Config-Script → CD4 (CD4процент)
 - b. Соответствующая функция Measure-Script выбирается автоматически.

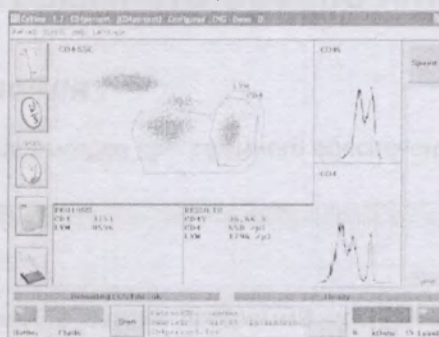


4. Подсоединить пробоотборную трубку к пробоотборному порту.
 - a. Щелкнуть кнопку START для выполнения замера. Прибор выполнит определенные процессы, которые представлены в нижней части экрана:
 - i. PRERUN :Создает временный, быстрый поток образцов
 - ii. RUN :Частицы замерыются и классифицируются
 - iii. MEASURE :Определенный объем замерыется и подсчитывается
 - b. При необходимости, прежде всего, отрегулировать пиковое значение положения Т-клетки CD4 на гистограмме (пиковое положение CD45) при помощи строки GAIN. Затем проверить нижний порог уровня для отключения нежелательных фоновых сигналов с левой стороны гистограммы, если это необходимо. Однако, не отключать интересующее основное пиковое значение. Просьба обращаться к рисункам ниже.
5. Во время режима COUNT, указанного на правой зеленой строке состояния, не изменять скорость, коэффициент усиления, пусковую систему или другие параметры программного обеспечения.
6. Подождать, пока замер и последовательная процедура очистки не прекратятся автоматически. Во время этого процесса справа указывается символ FLUSH.
7. При необходимости, настроить зону на отметку интересующей популяции клеток или частиц (см. раздел: Зоны).
8. Ввести или изменить имя пациента.
9. Затем сохранить (см. главу: Сохранение) или распечатать (см. главу: Распечатка) результат.

CD4



CD4процент



10. Результат замера отображается в окошках "Regions" и "Results". В окошке "Regions" отображается абсолютное число указанной клеточной популяции – анализируемой в 200 μ л объеме подсчета. Окошко "Results" показывает концентрацию соответствующей клеточной популяции в пределах оригинального объема крови.

Процедура ежедневного останова

Проточные цитометры представляют собой сложные, но надежные приборы, которые могут очищаться и дезинфицироваться несколькими несложными этапами. Для этой процедуры используются Очищающий и Дезинфицирующий растворы Partec.

Следующие этапы должны выполняться в конце каждого дня использования прибора:

1. Вставить пробоотборную трубку с 1.6 мл Дезинфицирующего раствора в пробоотборный порт и нажать кнопку START. Выполнить прогонку в течение 15 секунд и сдавить трубку с жидкой оболочкой. Остановить прибор нажатием кнопки STOP, отпустить сдавленную трубку и выдержать в течение 15 минут. Выполнить повторный запуск системы нажатием кнопки START и подождать, пока замер и последовательная процедура очистки не прекратятся автоматически.
2. Повторить процедуру с 1.6 мл Очищающего раствора без сдавливания трубки и выдерживания.
3. Вставить пробоотборную трубку с 1.6 мл жидкой оболочки в пробоотборный порт и нажать кнопку START. Через 2 минуты замера нажать кнопку STOP и удерживать пробоотборную трубку с жидкой оболочкой подсоединенной к пробоотборному порту.
4. Выключить прибор.

Подробное описание программного обеспечения: CyView

Меню программного обеспечения

В следующей главе дается обзор функций параметров программного обеспечения.



Заголовок содержит информацию о названии и версии программы, названии графики Config- и Measure-Script, состоянии программного обеспечения и выбранном языке.

В выпадающем меню имеются следующие опции:

Reload!:	Загрузить сохраненный замер	
Scripts:	Загрузить Config-Script:	Компоновка может быть загружена
	Сохранить Config-Script:	Компоновка может быть сохранена
	Загрузить Measure-Script:	Настройка параметров может быть загружена
	Запустить очистку:	Может быть начат цикл автоматической очистки
Help:	Программная помощь:	Можно открыть программную помощь
	Информация о OEMP:	Показывает номер версии программ. обеспечения
Language:	Можно выбрать языковое меню (английский или немецкий)	

Щелчком по соответствующей кнопке с левой стороны дисплея можно выбирать и изменять следующие параметры или функции, находящиеся в активном состоянии:



Изменение порогового уровня параметра пускового устройства. (L-L) Вставить/изменить имя пациента (пациент)



Изменение настроек потока образцов (скорость)



Изменение параметров в пределах SSC, CD4 и CD45, щелкнув несколько раз данную кнопку. Изменение повышенного напряжения выбранного параметра (коэффициент усиления)

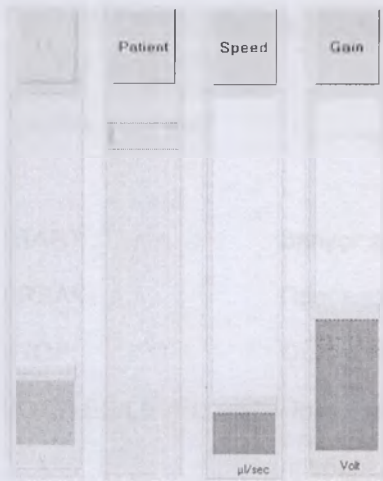


Сохранение замера в качестве данных FCS.



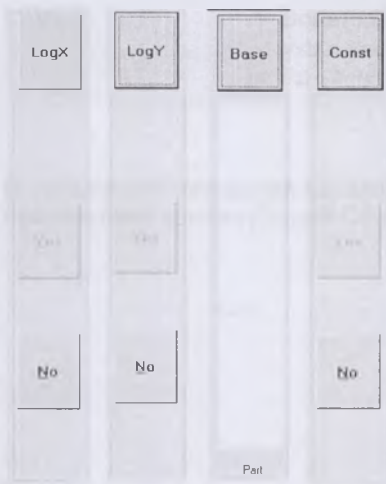
Распечатка замера в качестве отчета.

Щелчком по одной из указанных выше кнопок открывается строка состояния на правой стороне дисплея, которая может использоваться для изменения активного параметра.



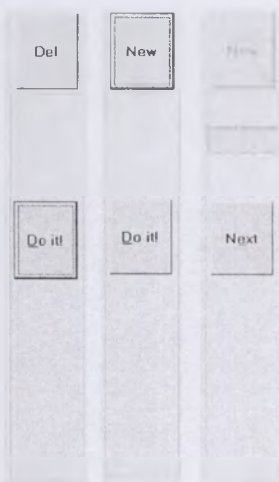
- L-L:** Установка порогового уровня параметра пускового устройства путем выбора значения от 0 до 0.7.
- Patient:** Изменение имени пациента. Данную функцию может найти нажатием кнопки L-L.
- Speed:** Изменение скорости потока образцов от 0.2 до 20 $\mu\text{л/с}$.
- Gain:** Изменение величины коэффициента усиления выбранного параметра (SSC, CD4, CD45), который является высоким напряжением фотоумножителя (PMT); величина от 0 до 1000.

После щелчка по окошку расположения можно выбирать следующие опции путем нажатия несколько раз верхней кнопки справа на дисплее:

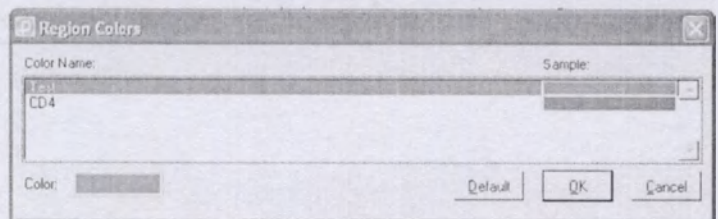


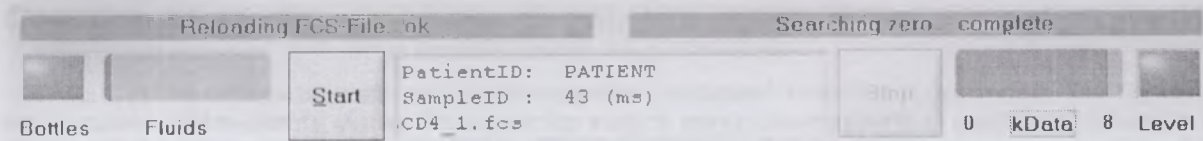
- LogX:** Переключение масштабирования между Log.- и Lin.- (гистограмма и ось x точечного плана)
- LogY:** Переключение масштабирования между Log.- и Lin.- (ось y точечного плана)
- Base:** Изменение уровня z точечного плана; величина 1-10.
- Const:** Применение уровня z величины 0 или 1 для точечного плана.

Щелчком по одной и зон активируются следующие функции:



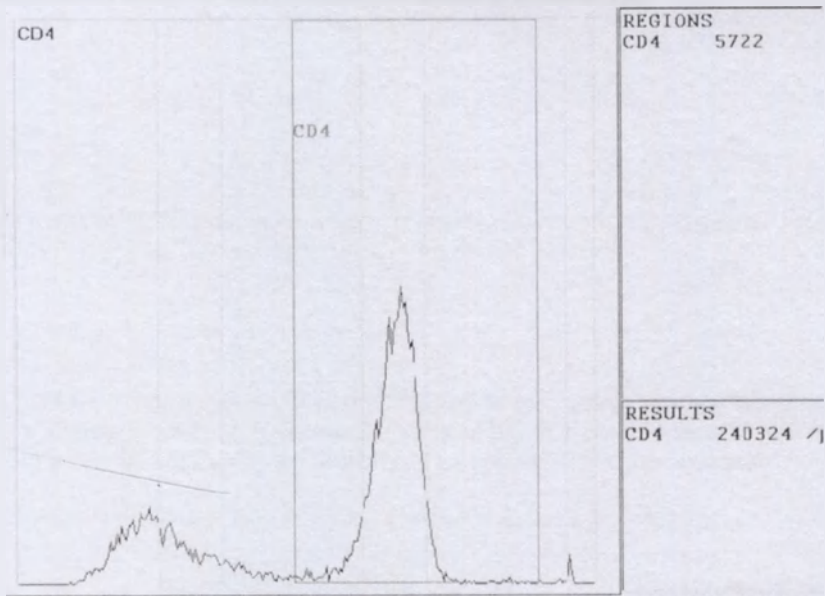
- DEL:** Удаление зоны, если она не используется для отображения результата
- NEW:** Создание новой зоны, выбор имени, цвета зоны и контрольных точек





- START: Запуск замера, когда прикреплен образец.
- BREAK: Прерывание замера, который не может продолжаться далее
- STOP: Остановка замера
- BOTTLES/LEVEL: Показывает уровень заполнения содержимым пробирок (жидкая оболочка/отходы) и пробоотборной трубки. Красный цвет указывает на почти пустую пробирку с жидкой оболочкой или почти полную пробирку с отходами.
- FLUIDS: Показывает по очереди количество жидкой оболочки (μл/сек) и пробной жидкости (частиц/сек)
- KDATA: Показывает объем памяти и удаляет гистограмму
- LEVEL: Зеленый цвет указывает на заполненное количество образца, а красный цвет указывает на отсутствие образца. Мигание зеленого/красного цвета указывает на то, что образец находится между двумя электродами.

В окошке расположения показаны различные гистограммы и точечные планы, в зависимости от использования конфигурации ConfigScript.

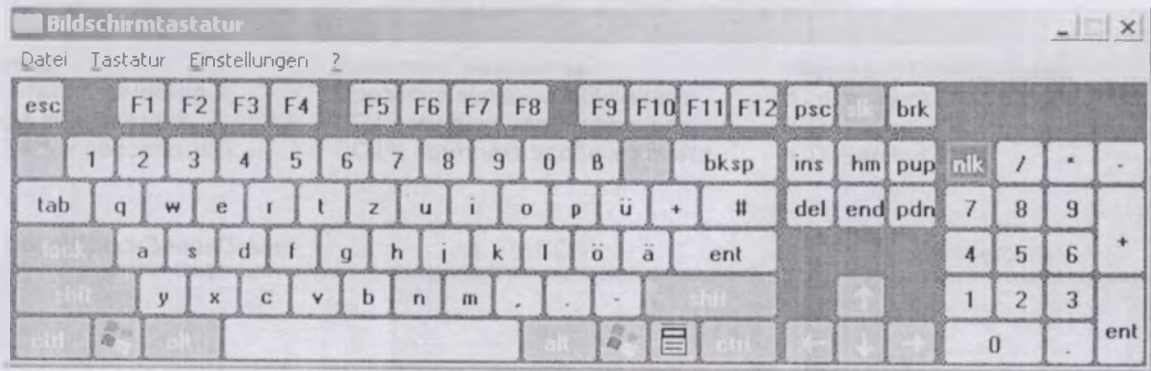


Сенсорная панель

Счетчик CyView оптимизирован для использования сенсорной панели с указателем. Как вариант можно также использовать мышь. Большинство входов могут распознаваться сенсорной панелью и клавиатурой с программным обеспечением. Возможен "двойной щелчок".

Клавиатура

Доступ к входам для клавиатуры с программным обеспечением осуществляется нажатием кнопки ENTER, а затем клавиатура автоматически закрывается.



Внешняя мышь и клавиатура

Как вариант попеременно использовать внешнюю мышь и клавиатуру.

Функции программного обеспечения

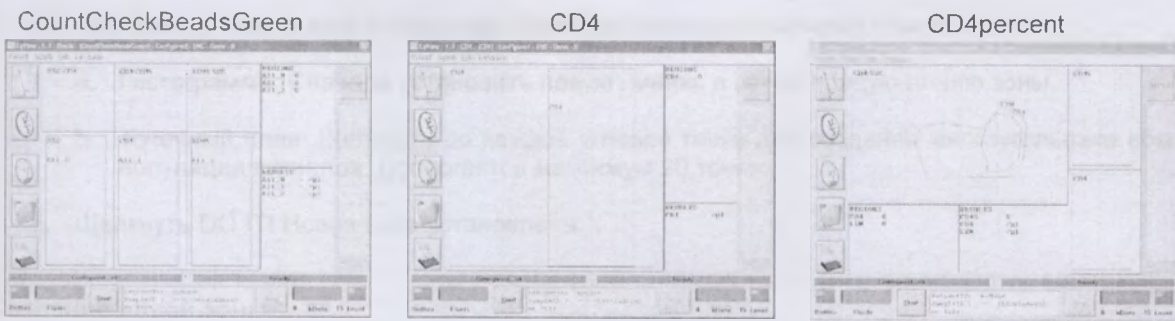
Config-Script

Функция Config-Script определяет местоположение, которое включает в себя номер, ярлык и отображение гистограммы, точечных планов, зон и окна результатов. Функции Config-Scripts хранятся в папке Config-Folder и должны загружаться перед началом замера:

Scripts → Load Config-Script → CountCheckBeadsGreen (CD4, CD4percent)

Для каждого замера выбирается соответствующая функция Config-Script:

Замер	Комплект реагентов	Функция Config-Script
Контроль качества	Проверка зелеными бусинами	CountCheckBeadsGreen
CD4 абсолютный	CD4 комплект удобного счета	CD4
CD4% и абсолютный	CD4% комплект удобного счета	CD4percent



Measure-Script

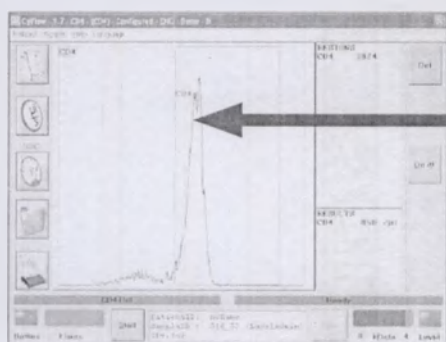
Функция Measure-Script содержит настройки по умолчанию для параметра пускового устройства, величин коэффициента усиления, скорости и зон. Она загружается автоматически с соответствующей функцией Config-Script и может изменяться до или во время замера.

Regions

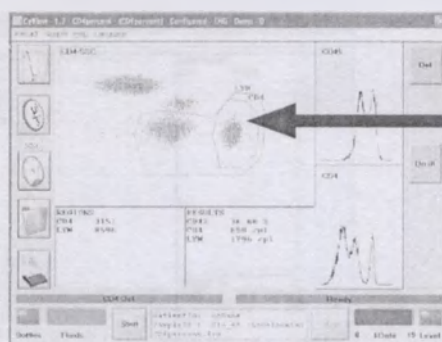
Функция Regions отделяет область частиц (кластер) от плана. Зона, принадлежащая гистограмме, имеет две границы (линии), одна, принадлежащая точечному плану, может иметь от 3 до 20 точек (многоугольник). Зона может создаваться/удаляться во время или после замера.

Следующие зоны предопределены для каждого замера и могут регулироваться, но не удаляться:

Замер	Комплект реагентов	Предопределенные зоны
Контроль качества	Проверка зелеными бусинами	ALL_0, ALL_1, ALL_2
CD4 абсолютный	CD4 комплект удобного счета	CD4
CD4% и абсолютный	CD4% комплект удобного счета	CD4, LYM



Линия



Многоугольник

Как добавлять или изменять зону:

Изменение уже установленной зоны:

1. Щелкнуть кнопку REGIONS, пока не будет выбрана зона, подлежащая изменению
2. Щелкнуть DO IT!
3. Нарисовать новую зону в пределах плана (гистограмма/точечный план)
 - а. Гистограмма: Сначала установить левую линию, а затем правую линию зоны
 - б. Точечный план: Щелкнуть по каждой угловой точке для создания многоугольника вокруг популяции сигналов. Допускается максимум 20 точек.
5. Щелкнуть DO IT! Новая зона установлена.

Создание новой зоны

1. Щелкнуть REGION
2. Щелкнуть DEL. Появится окно NEW. Щелкнуть DO IT!
3. Выбрать название. Вы можете сделать это при помощи программной клавиатуры. Также можно выбрать цвет. Щелкнуть NEXT
4. Нарисовать зону в пределах плана (гистограмма/точечный план)
 - а. Гистограмма: Сначала установить левую линию, а затем правую линию зоны.
 - б. Точечный план: Щелкнуть по каждой угловой точке для создания многоугольника вокруг популяции сигналов. Допускается максимум 20 точек.
5. Щелкнуть NEXT. Новая зона установлена.

Пусковое устройство/L-L

Параметр пускового устройства для каждого замера сохраняется в памяти функции Measure-Script и не может изменяться.

Замер

Контроль качества
CD4 абсолютный
CD4% и абсолютный

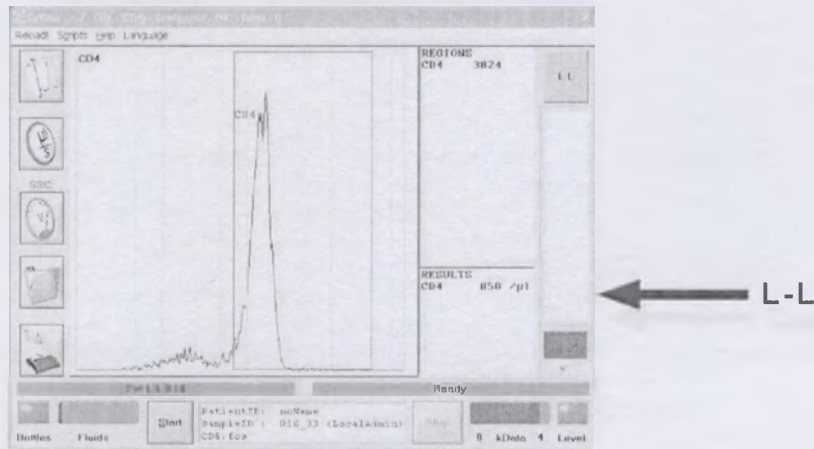
Комплект реагентов

Проверка зелеными бусинами
CD4 комплект удобного счета
CD4% комплект удобного счета

Параметр пускового устройства

CD4 (FL2, оранжевое свечение)
CD4 (FL2, оранжевое свечение)
CD45 (FL3, красное свечение)

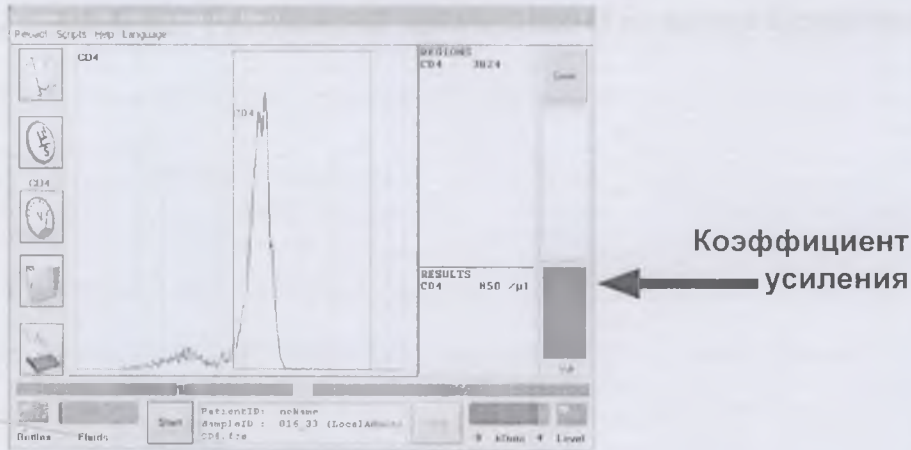
Для точного замера может потребоваться настройка значения по умолчанию L-L, которое является пороговым уровнем параметра пускового устройства.



Открыть программу LL-tool, щелкнув кнопку L-L/Patient слева на дисплее. Изменить величину L-L, переместив панель вверх или вниз. Выбранная величина в пределах 0-0.7 отобразится в левом зеленом поле.

Коэффициент усиления

Величиной коэффициента усиления является высокое напряжение HV трубки фотоумножителя и описывает усиление сигнала каждой замеряемой частицы. Величина может устанавливаться в пределах от 0 до 999. Увеличение усиления сдвигает сигналы/пиковые значения вправо, а уменьшения сдвигает их влево. Сигналы/пиковые величины могут оптимизироваться коэффициентом усиления на гистограмме/точечном плане.



Выбрать параметр (SSC, CD4, CD45), для которого вы бы хотели изменить величину коэффициента усиления, щелкнув среднюю левую кнопку, пока не появится название нужного параметра. Затем изменить величину коэффициента усиления передвижением панели вверх и вниз. Величина в пределах от 0 до 999 отобразится в левом зеленом поле.

Скорость образца

При помощи функции Speed скорость образца может регулироваться от 0.2 до 20 µл/сек. Низкая/высокая скорость образца вызывает повышенную/пониженную точность, но также увеличивает/уменьшает время, необходимое для замера. Для стандартного замера, например, проверка подсчета зелеными бусинами, CD4 абсолютный и CD4%, скорость по умолчанию составляет 3 µл/сек.



Скорость

Для изменения скорости образца, активировать параметр путем нажатия кнопки $\mu\text{l/s}$ слева. Затем изменить величину Speed путем передвижения панели вверх и вниз. Величина в пределах от 0.2 до 20 $\mu\text{l/сек}$ отобразится в левом зеленом поле.

Сохранение

Замер сохраняется по запросу путем нажатия кнопки FCS. Название файла по умолчанию: <patient>_<date>_<time>.

Распечатка

Гистограммы и точечные планы наряду с результатами распечатываются по запросу посредством нажатия кнопки Print.

Устранение неисправностей

Что делать, если...

1. Результат замера при помощи зеленых бусин для проверки подсчета находится за пределами диапазона 10% от указанной на пробирке особой концентрации партии.
 - Энергично встряхнуть пробирку и повторить замер.
 - Выполнить процедуру необходимой очистки.
2. Во время анализа жидкая оболочка течет обратно в пробоотборную трубку.
 - Пробоотборная трубка не прикреплена надлежащим образом к пробоотборному порту. Убедиться в том, что слышен "щелчок", когда вы вставляете пробоотборную трубку в пробоотборный порт. Повторить замер с новым образцом.
 - Пробоотборная трубка треснута. Повторить замер с новым образцом.
 - Заменить уплотнение на пробоотборном порте BioSafety.
3. Поток образцов очень медленный или не проходит. Подсчет иногда занимает до 5 минут даже при высокой скорости.
 - Проточная кювета загрязнена и частично забита. Выполнить процедуру необходимой очистки.
 - Заменить уплотнение на пробоотборном порте BioSafety.
 - Проверить, чтобы сточная пробирка, была надлежащим образом закрыта, и чтобы пробирка не была треснута.
4. Образец не запускается автоматически.
 - Тщательно очистить два электрода пробоотборного порта, протерев их мягкой тканью, смоченной в Дезинфицирующем растворе.
5. Гистограмма/точечный план не видны во время стадии прогонки
 - Проверить, правильно ли вы загрузили ConfigScript для вашего замера.
 - Увеличить скорость. Если это работает, то вы должны выполнить процедуру необходимой очистки.
 - Проверить, функционирует ли лазер. Осторожно открыть крышку прибора и проверить, видим ли зеленый свет лазера. Просьба обращаться к главе: Безопасность при работе с лазерами
6. Не имеется должного разделения между особым пиковым/клеточным кластером и фоновыми сигналами.
 - Заменить жидкую оболочку.
 - Проверить Счетчик CyFlow® при помощи зеленых бусин на предмет точности подсчета.
 - Повторить анализ (ЭДТА крови от здорового донора).
 - Change inline filter of Sheath bottle.
7. Пиковые величины очень грубые и разделение между пиковыми величинами/клеточными кластерами неудовлетворительное.
 - Проверить образец крови (система взятия крови, хранение, процедура приготовления).
 - Проверить наличие воздушных пузырьков внутри проточной кюветы.

Необходимая очистка проточной кюветы

Просьба выполнить следующие стадии:

1. Вставить пробоотборную трубку с 1.6 мл Гипохлоритного раствора в пробоотборный порт и нажать кнопку START. Выполнить прогон в течение 15 секунд и сдвинуть трубку с жидкой оболочкой. Прекратить замер нажатием кнопки STOP, отпустить сжимаемую трубку и выдержать ее в течение 15 минут. Выполнить повторный запуск системы нажатием кнопки START и подождать, пока замер и процедура последующей очистки не прекратятся автоматически.
2. Повторить с трубкой с 1.6 мл Дезинфекционного раствора. Время выдержки также может увеличиваться.
3. Вставить пробоотборную трубку с 1.6 мл Жидкой оболочки в пробоотборный порт и нажать кнопку START. Подождать, пока замер и процедура последующей очистки не прекратятся автоматически.
4. Выполнить замер с зелеными бусинами для проверки подсчета с целью проверки работы счетчика CyFlow®.

Приложение

Требования к установке

Источник питания	100/240 В пер.тока Автом. аккумулятор / Солнечная батарея 12 В пост. тока (только в сочетании с преобразователем напряжения)
Размер	Ш 325 мм х В 330 мм х Г 265 мм Масса: 11.5 кг

Рабочие условия

Счетчик CyFlow® должен устанавливаться на твердое основание, например, на лабораторный стол. Он должен устанавливаться в горизонтальном положении. Необходимо устранить концентрацию дыма, пыли, вибраций, прямых солнечных лучей и любой источник прямого тепла. Помещение установки должно хорошо проветриваться и осушаться.

Температура	15-30°C
Влажность	20-85% относительная (без конденсации)
Помещение	Чистое. Следует избегать прямых солнечных лучей. При необходимости, установить кондиционер.

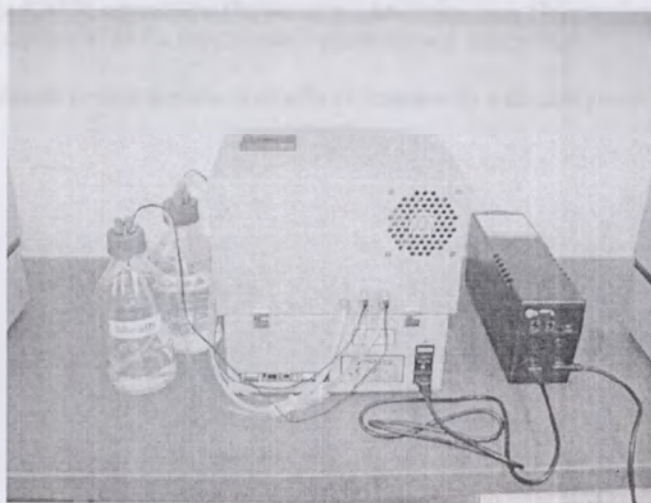
Минимальное рекомендуемое полезное пространство

Размеры стола и пространство на поверхности Ш 575 мм х В 350 мм х Г 600 мм

Настройка счетчика CyFlow®

Основные схемы подключения

- Вставить вилку сетевого кабеля в розетку UPS (блок бесперебойной подачи питания).
- Подключить UPS к счетчику CyFlow®.
- Подсоединить сточную трубку и трубку отвода воздуха к соответствующему разъему (см. бирки) на задней части прибора.
- Плотнo закрыть красную винтовую крышку сточной пробирки.
- Подсоединить трубку с жидкой оболочкой к разъему (см. бирку) на задней части прибора.
- Заполнить пробирку жидкой оболочкой, закрыть крышку и удалить все воздушные пузырьки, которые могут захватываться под встроенным фильтром, осторожно наклонив пробирку.



Техническое обеспечение и обслуживание

Техническое обеспечение

Тщательно производить очистку корпуса счетчика CyFlow® на регулярной основе при помощи мягкой ткани. Вода не должна попадать внутрь счетчика CyFlow® или блока бесперебойной подачи питания UPS, или соприкасаться с электрическими соединениями и выключателями. При очистке крана, всегда использовать специальный очиститель для кранов и мягкую ткань.

Не использовать органические растворители, растворители для нитрокрасок, бензол, спирт, высококонцентрированные отбеливающие вещества и т.д.!

Регулярно сливать пробирку с отходами и очищать при помощи моющего средства и щетки.

Очищать пробирку для жидкой оболочки питьевой водой из бутылок и щеткой. Промывать несколько раз питьевой водой из бутылок. Помнить, что чистота пробирки для жидкой оболочки является важным моментом для надлежащей эксплуатации.

Если Счетчик CyFlow® не используется длительное время, убедиться, что вы не оставили подсоединенной пробоотборную трубку с жидкой оболочкой к пробоотборному порту после выполнения процедуры останова.

Обслуживание

Все обслуживание должно выполняться уполномоченным на то инженером по обслуживанию. Просьба обращаться к вашему местному поставщику или в компании Partec (supportcenter@partec.com).

Транспортировка и хранение

Для транспортировки системы в другое место, необходимо отсоединить все внешние трубки, а также данные и источники электропитания. При использовании с потенциальными биологически опасными материалами, просьба обращаться к Стандартным процедурам эксплуатации (СПЭ) компании Partec для дезинфекции. Эта система должна перевозиться в вертикальном положении. Во время транспортировки или хранения убедитесь, что система будет храниться в следующих условиях.

Температура: 5-50°C

Влажность: 20-85% относительная (без конденсации)

Помещение: Чистое, отсутствие прямых солнечных лучей

Утилизация

В случае утилизации продукта, просьба выполнять процедуры в соответствии со Стандартными процедурами эксплуатации (СПЭ) компании Partec для дезинфекции. После дезинфекции, систему следует утилизировать в соответствии с местными правилами и законами.

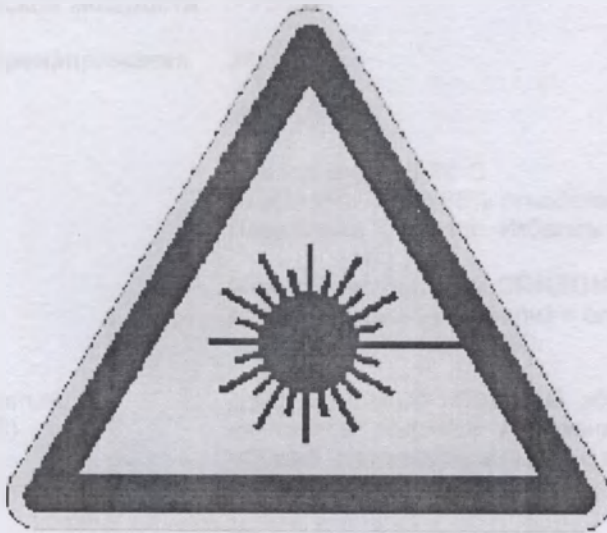
Для получения дальнейшей информации просьба обращаться к вашему местному дистрибютору или в компанию Partec.

Безопасность при работе с лазерами

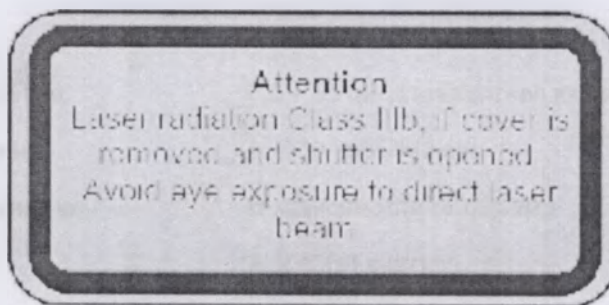
Счетчик CyFlow® представляет собой лазерный продукт класса I в соответствии со стандартом EN 60825-1.

Предупреждение:

Лазерный свет может излучаться, если защитная крышка для лазерного луча снята, и открыт затвор луча. Потому система маркируется следующими знаками безопасности для работы с лазерами:



Предупреждение: лазерное излучение



Дополнительное пояснение

Счетчик CyFlow® – Технические условия

Примечание: Вследствие быстрого совершенствования техники, приведенные в данном документе спецификации подлежат изменению. Для подробной информации, просьба обращаться к Вашему поставщику.

1. Система счетчика CyFlow®

Размер	Ш 325 мм x В 330 мм x Д 265 мм
Масса	11.5 кг
Макс. уровень акустической мощности	< 70 дБА
Категория установки/перенапряжения	2/II
Степень защиты	IP 20
Рабочая среда	Температура 15-30°C Влажность 20-85% относительная (без конденсата) Помещение Чистое. Избегать прямых солнечных лучей.
Области применения	Мониторинг больных СПИДОМ/ВИЧ, Иммунофенотипирование, 2-цветный анализ и определение концентрации частиц при помощи TVAC.
Действительный объемный абсолютный счет (TVAC)	Действительный объемный абсолютный счет. Основан на точном подсчете и механическом замере жидкого объема. Нет необходимости в контрольном образце или контрольных бусинах.
Приборная проверка	Проверка счета зелеными бусинами (код Partec No. 05-4011)
Время настройки	Макс. 5 минут
Параметры	3 оптических параметра: SSC, FL2, FL3
Градация размеров частиц	0.5 – 50 µm (стандартная кювета)
Мах. скорость получения	15,000 событий/сек
Время остановки получения	В зависимости от объема
Пусковое устройство	FL2 (CD4 счет) FL3 (CD4 %)
Разрешение данных	65,536 (16 бит)
Графическое разрешение	256-канальное разрешение для гистограммы 1P 256/256-канальное разрешение для точечного плана 2P
Сервис	Просьба обращаться к местному поставщику или фирме Partec
Гарантия	12 месяцев для всех деталей кроме фильтров, зеркал, прочих деталей из стекла и кварца. элементов одноразового использования и кювет, если иное не указано

2. CyFlow® Counter Optics

Лазер/Мощность	Зеленый NdYAG: 30 мВт at 532 нм
Детекторы	3 (SSC, FL2, FL3)

Фильтры	Стандартные настройки и фильтры для SSC, FL2 и FL3
Оптика возбуждения	Овальная 15 μm x 100 μm при 488 нм

3. Струйная техника CyFlow®

Проточная кювета	Синтетическая кварцевая проточная кювета с периферическим каналом потока (350 x 200 μm) для транспортировки пластинчатого образца с жидкой оболочкой для определения рассеянного и флуоресцентного света.
Подача образца	Точный шприцевой насос, контролируемый компьютером для транспортировки стерильного образца. Встроенный вакуумный насос (400 мбар) для транспортировки жидкой оболочки и образца.
Объем пробоотбора	Непрерывный до 2000 μl Минимум 840 μl для действительного объемного абсолютного счета (TVAC)
Расход	Постоянно регулируемая скорость контрольного объема в пределах от 0.2 до 20 $\mu\text{l}/\text{сек}$
Флюидный объем	Стеклянная пробирка 2 x 1л (во взрывозащищенном исполнении) для жидкой оболочки и отходов

4. Электроника и компьютер счетчика CyFlow®

Электроника	Обработка сигнала Усилители 16-битный АЦП Пусковое устройство
Компьютер	Встроенный компьютер Процессор Intel Celeron 8.4-дюймовый цветной сенсорный экран (SVGA) Клавиатура (дополнительно) Мышь (дополнительно) Принтер (встроенный)

5. ПО CvView ПО

Программное обеспечение	Windows™ Стандартный формат списочного режима FCS 2.0 Сопровождение в реальном времени Отчет (автоматический расчет)
Комплектация развертки	Нижние пороговые величины уровня аппаратного обеспечения для параметров запуска событий, регулируемые ПО Зона (до 20 точек) Диапазон
Развертка	Онлайновая и офлайновая развертка, хранимая в памяти развертка с функцией ConfigScript
ConfigScript	Сохраняет местоположение замера
MeasureScript	Сохраняет коэффициент усиления, скорость и т.д. в качестве величин по умолчанию. Загружается при помощи соответствующей функции ConfigScript
Отчет	Автоматический расчет CD4 и CD4%



СПРАВКА О МЕДИЦИНСКОМ ИЗДЕЛИИ

«Система диагностическая проточной цитометрии CyFlow Counter» с принадлежностями (далее система) производства «Partec GmbH», Германия.

Система предназначена для контроля иммунного состояния больных. Система предлагает возможность абсолютного счета положительных Т-клеток CD4 (CD4+), определения Т-клеток CD4 среди лимфоцитов (CD4%) и абсолютных величин Т-клеток CD3+ и CD8+. Определение процентного содержания CD4 согласно Всемирной Организации Здравоохранения (WHO) является клинически соотнесенным параметром для определения возникновения высокоактивной антиретровирусной терапии у детей. Система оборудована зеленым (532 нм) твердотельным лазером и тремя оптическими параметрами для обнаружения бокового рассеивания (SSC), оранжевыми (FL2) и красными (FL3) флуоресцентными сигналами.

Принадлежности:

USB хаб (USB Hub).

Блок питания с кабелем (Power Supply + Cable).

Бумага для термопринтера (Thermo printer paper 5 rolls) 5 шт.

Бутылки для ламинарной жидкости и отходов (Sheath and waste bottle) 2шт.

Бутылки с узким горлом, 125 мл. (125 ml narrow mouth bottle) 5шт.

Входной фильтр для бутылки с ламинарной жидкостью (Inline filter for sheath container).

Кабель RS232 (RS232 Cable).

Кабель питания (Power supply cable).

Карандаш для сенсорного экрана (Pen for touchscreen color monitor).

Клавиатура (Keyboard).

Мышь (Mouse).

Набор инструментов (Service tools set).

Набор прокладок для держателя образца (Sealing set for sample port) 5шт.

Набор сменных трубок для проточной кюветы и контейнеров для слива ламинарной жидкости (Tubing replacement sets for flow cuvette and sheath/waste container) 2шт.

Станция пробоподготовки (Autopreparation station).

Штатив (Tray).

Класс потенциального риска 2а по ГОСТ Р 51609 – 2000.

Технические характеристики.

Размер Ш 325 мм х В 330 мм х Д 265 мм

Масса 11.5 кг

Макс. уровень акустической мощности < 70 дБА

Категория установки/перенапряжения 2/II

Степень защиты IP 20

Источник питания 100/240 В пер.тока.

Автономный аккумулятор / Солнечная батарея 12 В постоянного тока (только в сочетании с преобразователем напряжения).

Время выхода на рабочий режим до 5 мин.

Размер экрана встроенного цветного дисплея 8,4 дюйма.

Система не нуждается в предварительной калибровке объема исследуемой пробы косвенным способом специальными дорогостоящими микрочастицами. Истинный объем пробы точно измеряется непосредственно в процессе проточной цитометрии прямым электронно-механическим способом. Эта эксклюзивная особенность проточных цитометров CyFlow существенно упрощает, ускоряет и удешевляет цитофлуориметрические анализы.

Внутренний дизайн системы удачно сочетает компактность с расположением всех основных опто-электронных устройств на единой высокостабильной металлической шине. При этом оптический сигнал (световой, флуоресцентный) прямо попадает в соответствующие детекторы без использования опто-волоконных проводников, что исключает потери оптической энергии и, следовательно, существенно повышает чувствительность прибора.

(≥ 100 у. е. по ФИТЦ и 50 у.е. по РЕ) – максимальную на сегодняшний день.

Наряду с компактностью, внутренний дизайн настольных моделей позволяет существование расширения стандартной конфигурации (1-2 лазера, 6 детектируемых оптических параметров: прямое и боковое светорассеивание, 4 флуоресцентных цвета), как базовая стандартная модель, может дополняться встроенным прецизионным электронным сортировщиком клеток и частиц. Кроме того настольная модель по умолчанию снабжена встроенными видеокамерами с выходом на общий монитор для визуального контроля проточной цитометрии при необходимости.

Подготовка образцов к анализу сведена к минимуму: внесение флуоресцентного реагента в микрообъем исследуемой цельной крови или другой клеточно-тканевой суспензии, инкубация при комнатной температуре 20 минут – и можно приступать к проточно-цитометрическому анализу. В большом количестве образцов настольные модели могут подключаться к внешним автоматическим устройствам для подготовки и автоматической подачи образцов в проточный цитометр..

Генеральный директор



Ворошилов Н.А.