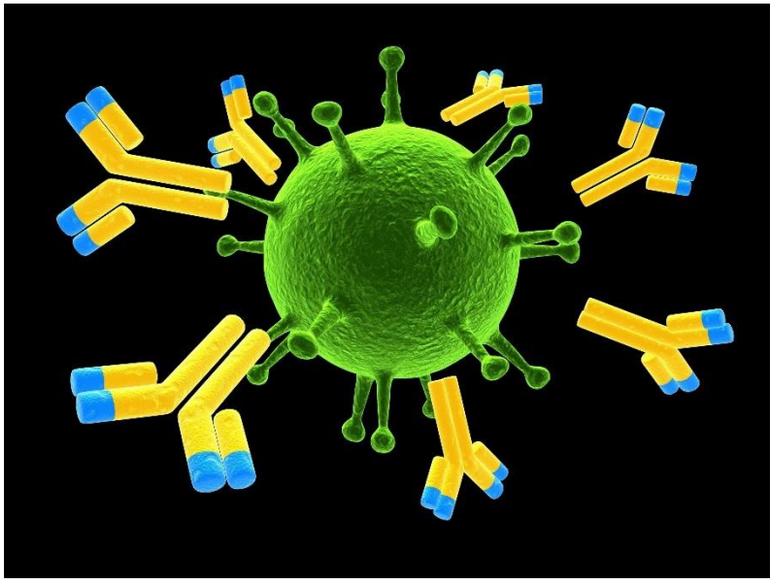
VUmc Cancer Center Amsterdam

Houdbaarheid van antistof cocktails



Angèle Kelder

Department of Hematology
VU University Medical Center, Cancer Center Amsterdam
Amsterdam, The Netherlands

VU Hematologie

Antistof cocktails

- In de afgelopen jaren heeft er een sterke ontwikkeling plaatsgevonden van 4-kleuren panels naar 6-10 kleuren panels
    - Nieuwe fluorochromen waaronder veel tandem dyes
    - Sterkte toename van fluorochroom combinaties

Publicaties

Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 86B:164–174 (2014)

Original Article

Tandem Dyes: Stability in Cocktails and Compensation Considerations

Ulrika Johansson[1] and Marion Macey[2]*

[1]Haematology Oncology Diagnostics, Bristol Royal Infirmary, Bristol BS2 8HW, United Kingdom

[2]Immunophenotyping, Pathology and Pharmacy Building, 80, London E1 2ES, United Kingdom

---

Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 00B:00–00 (2016)

Original Article

Stabilization of Pre-Optimized Multicolor Antibody Cocktails for Flow Cytometry Applications

Ray Chun-Fai Chan,* Joshua S. Kotner, Christine Ming-Hui Chuang, and Amitabh Gaur

Custom Technology Team, BD Biosciences, San Diego, California

Multi-color flow-cytometry (MFC)

Antistof cocktails worden tegenwoordig gebruikt bij 6-10 kleuren panels

Voordelen

- Tijdsbesparing
- Materiaal besparing
- Reproduceerbaarheid

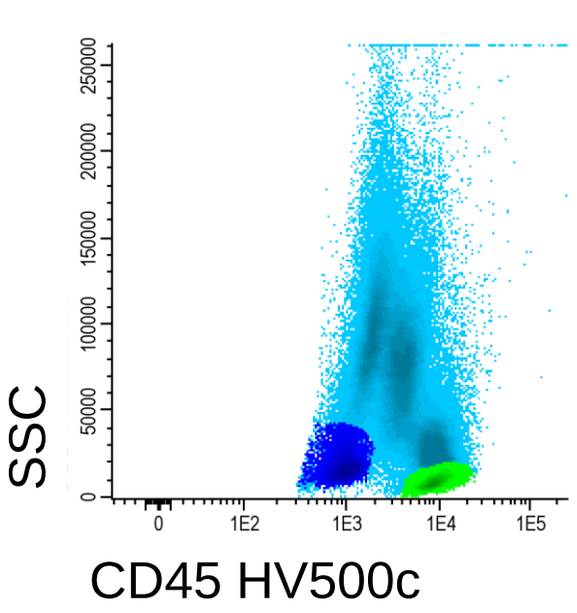
Punten van aandacht

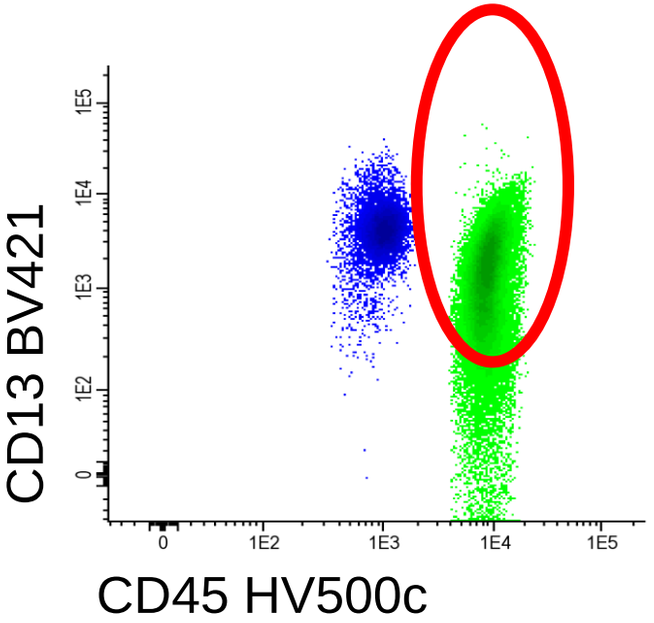
- Het gebruik van combinaties van verschillende antistof klonen
- Het gebruik van tandem-dyes (bv APC-H7 en PC7)
  - Gevoelig voor temperatuur en licht
  - Gebruik van fixatie

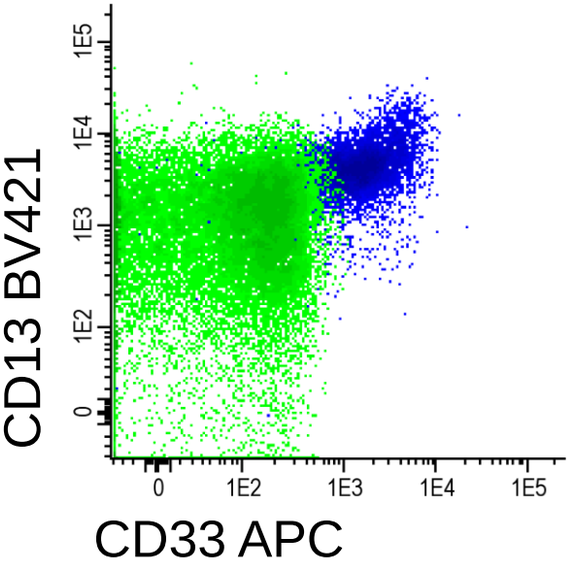
Combinaties van verschillende antistof klonen

Probleem: aspecifieke aankleuring van CD13 op lymfocyten

CD13 BV421 kloon WM15 in combinatie met CD45HV500c kloon 2D1







Witte bloedcellen

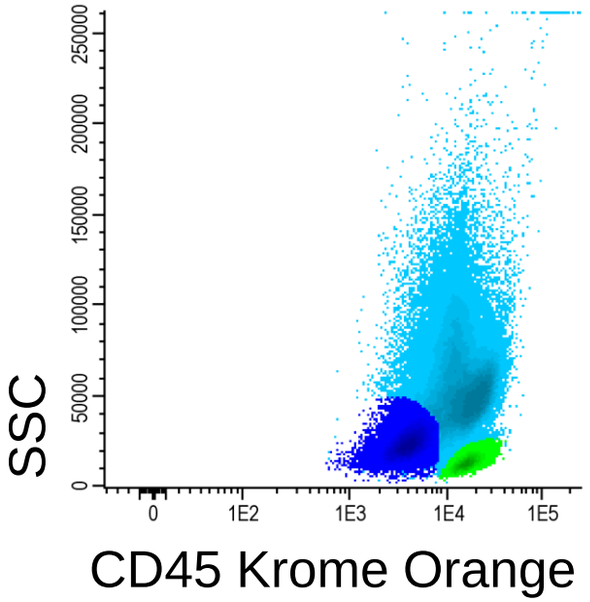
lymfocyten

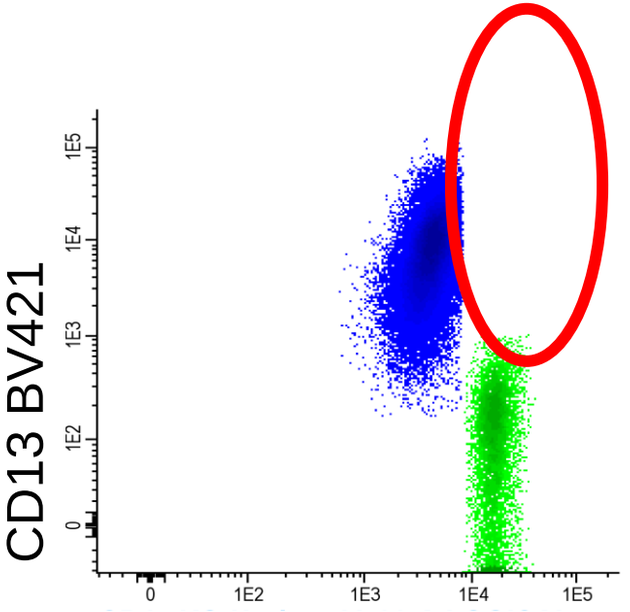
blasten

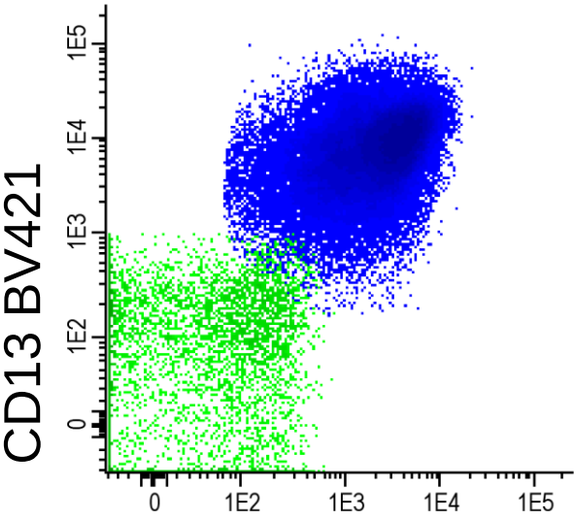
Combinaties van verschillende antistof klonen

Oplossing: CD45 kloon 2D1 vervangen voor kloon J.33

CD13 BV421 kloon WM15 in combinatie met CD45 Krome Orange kloon J.33





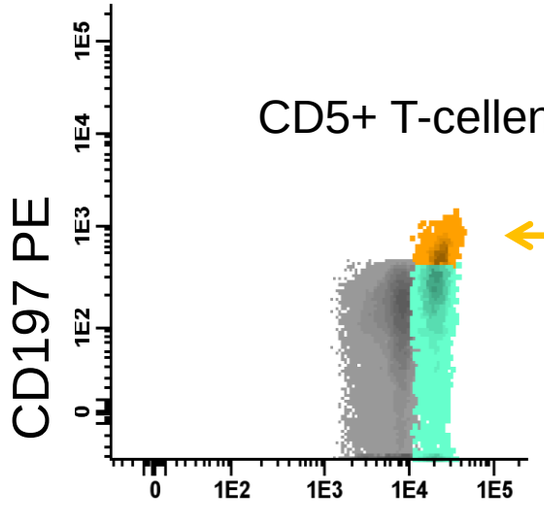


Witte bloedcellen

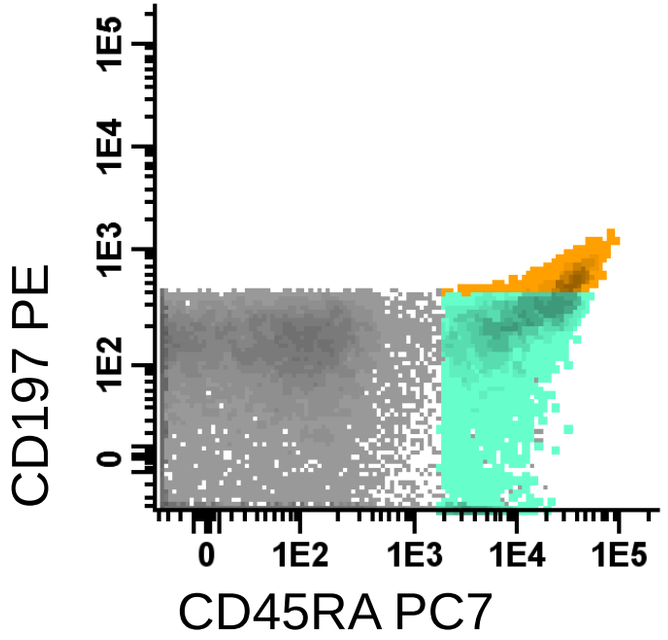
lymfocyten

blasten

Uit elkaar vallen van tandem dyes



CD197 positief?



Aan kleuring van PC7 in PE

Het omgaan met antistof cocktails

- Houd de panels zo veel mogelijk gekoeld en in het donker

Panels in het donker

Panels gekoeld

Firma: VWR

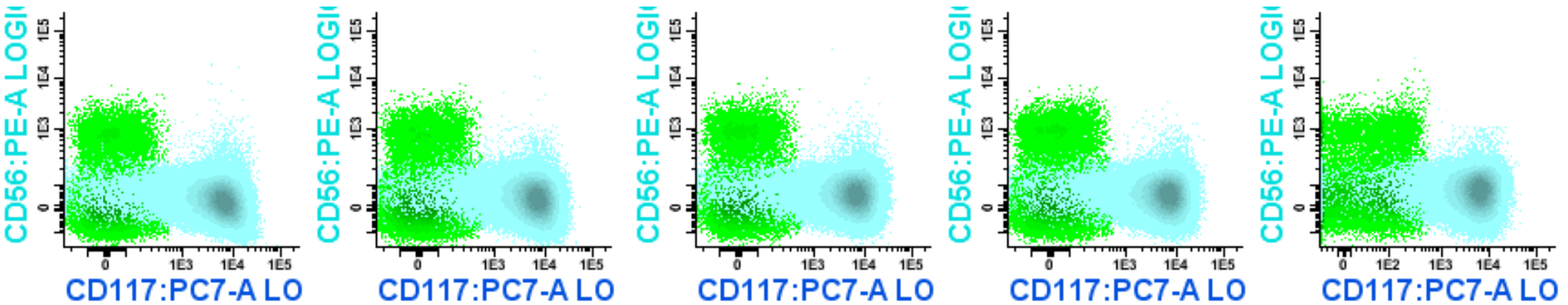
Houdbaarheid MRD werkgroep panel

Buis	FITC	PE	PerCP-CY5.5	PC7	APC	APC-H7	BV421	KO
1	CD7	CD56	CD34	CD117	CD33	HLA-DR	CD13	CD45
2	CD15	CD22	CD34	CD117	CD19	HLADR	CD13	CD45
3	CD36	CD14	CD34	CD117	CD11b	HLADR	CD13	CD45
4	CD2	CD133	CD34	CD117	CD33	HLADR	CD13	CD45

Houdbaarheid MRD Werkgroep Panel

buis 1

Dag 1 | Dag 7 | Dag 14 | Dag 28 | Dag 56



MRD 2068

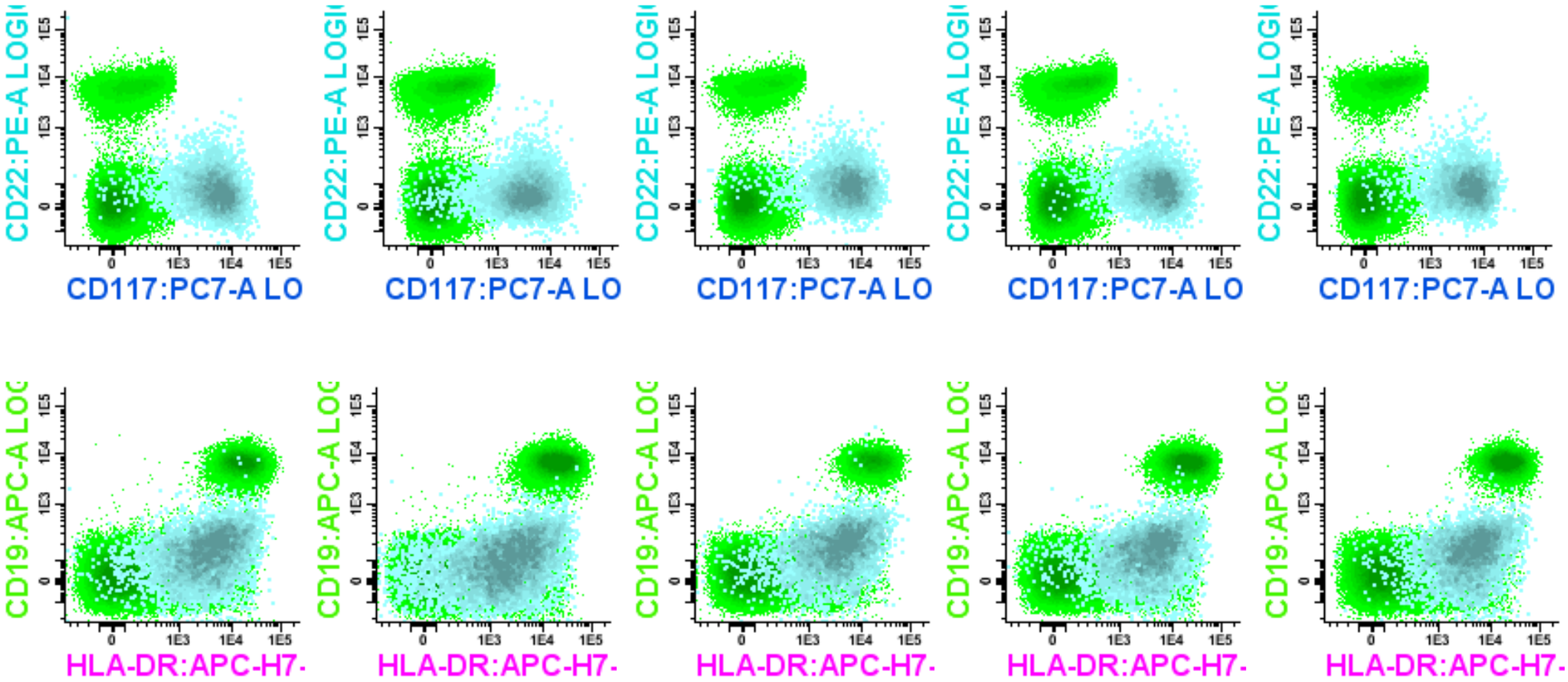
lymfocyten

CD34+ blasten

Houdbaarheid MRD Werkgroep Panel

buis 2

Dag 1	Dag 7	Dag 14	Dag 28	Dag 56



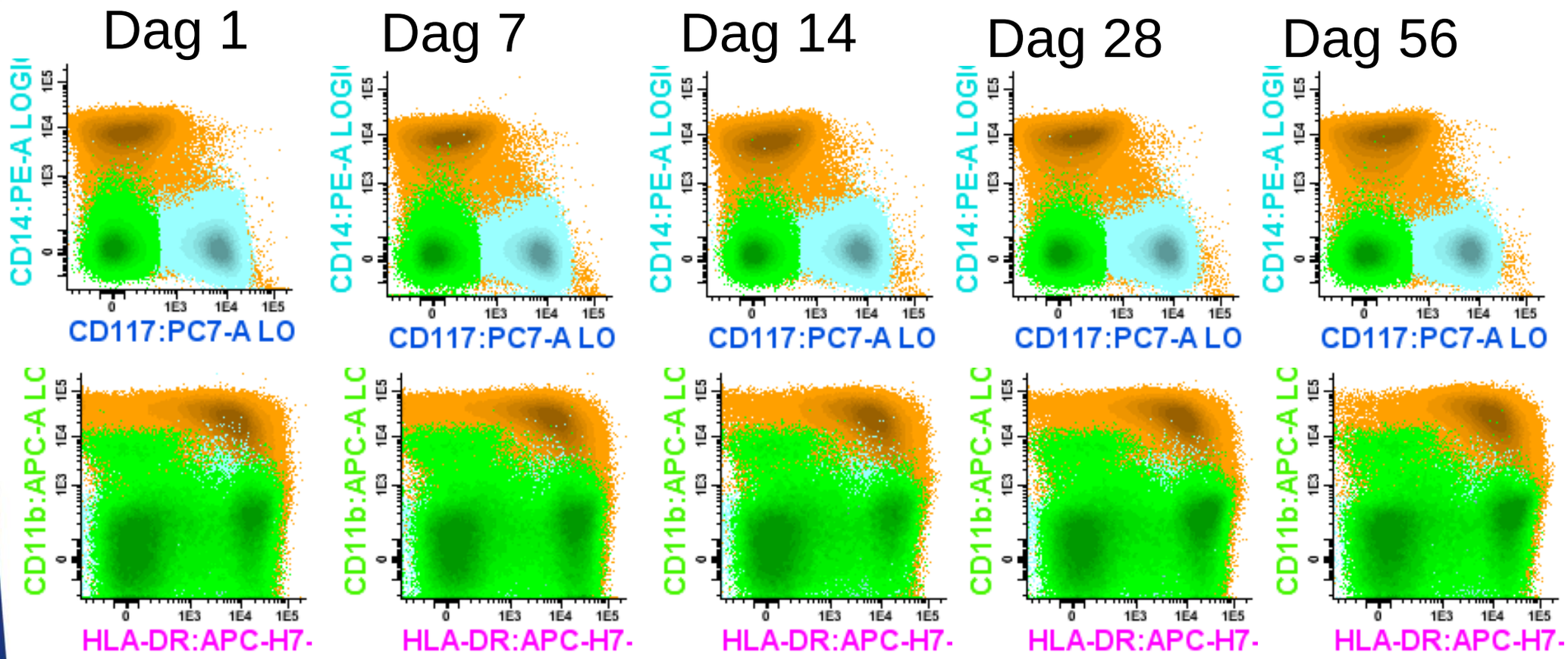
MRD 2068

lymfocyten

CD34+ blasten

Houdbaarheid MRD Werkgroep Panel

buis 3



lymfocyten

monoocyten

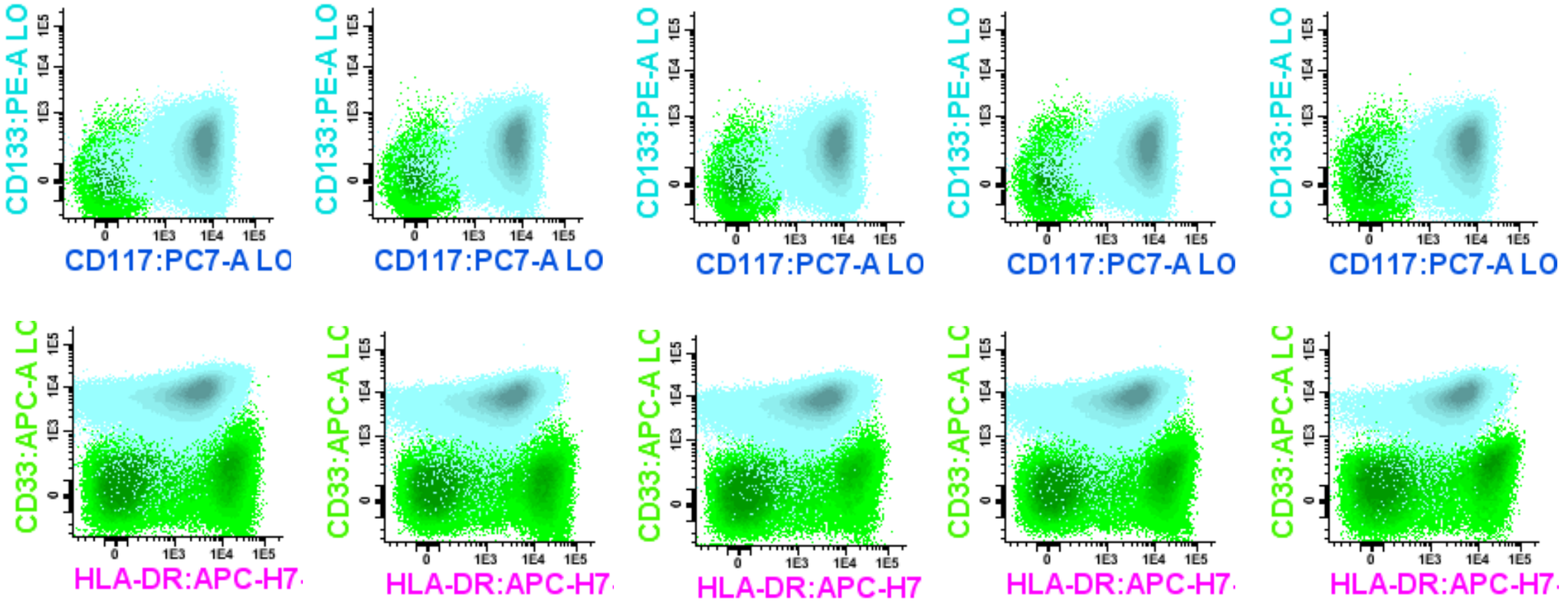
CD34+ blasten

MRD 2068

Houdbaarheid MRD Werkgroep Panel

buis 4

Dag 1 Dag 7 Dag 14 Dag 28 Dag 56

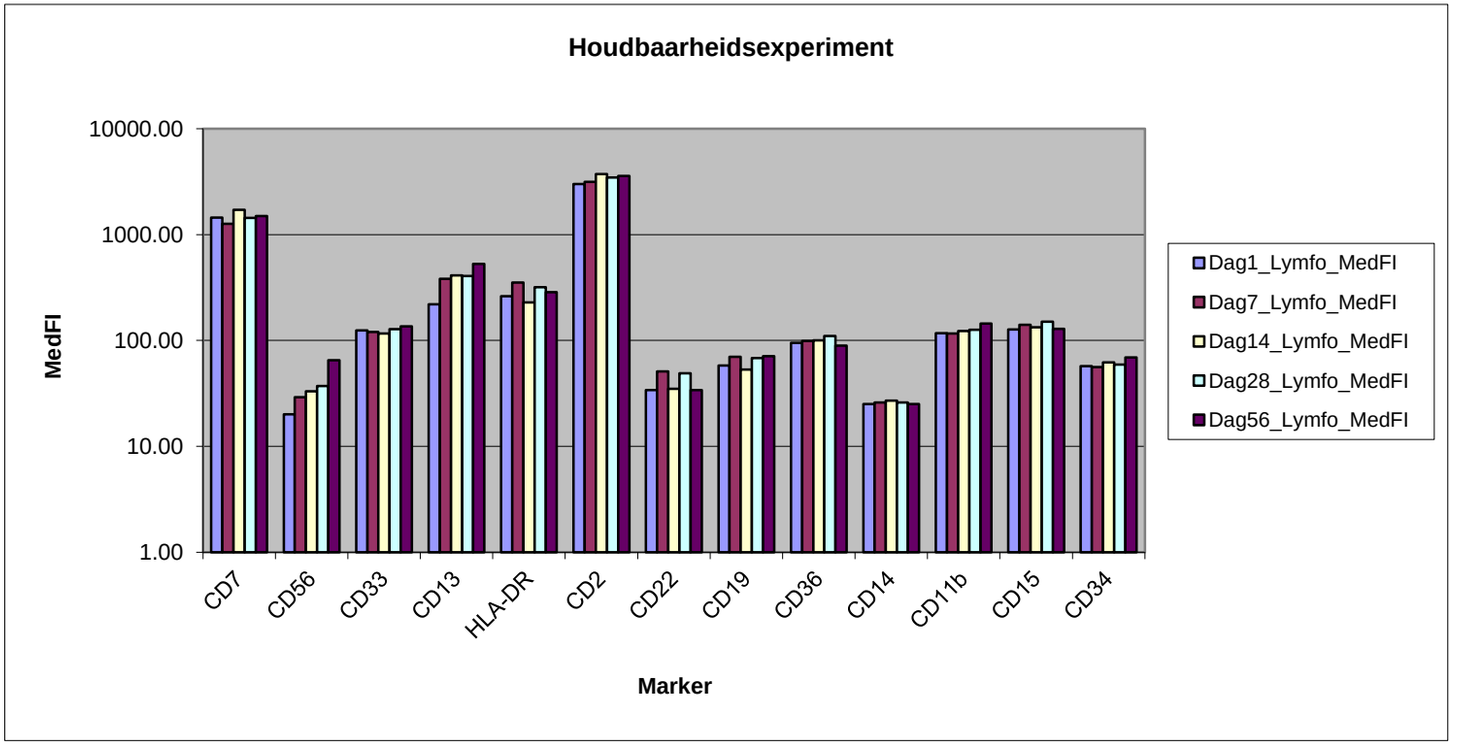


lymfocyten

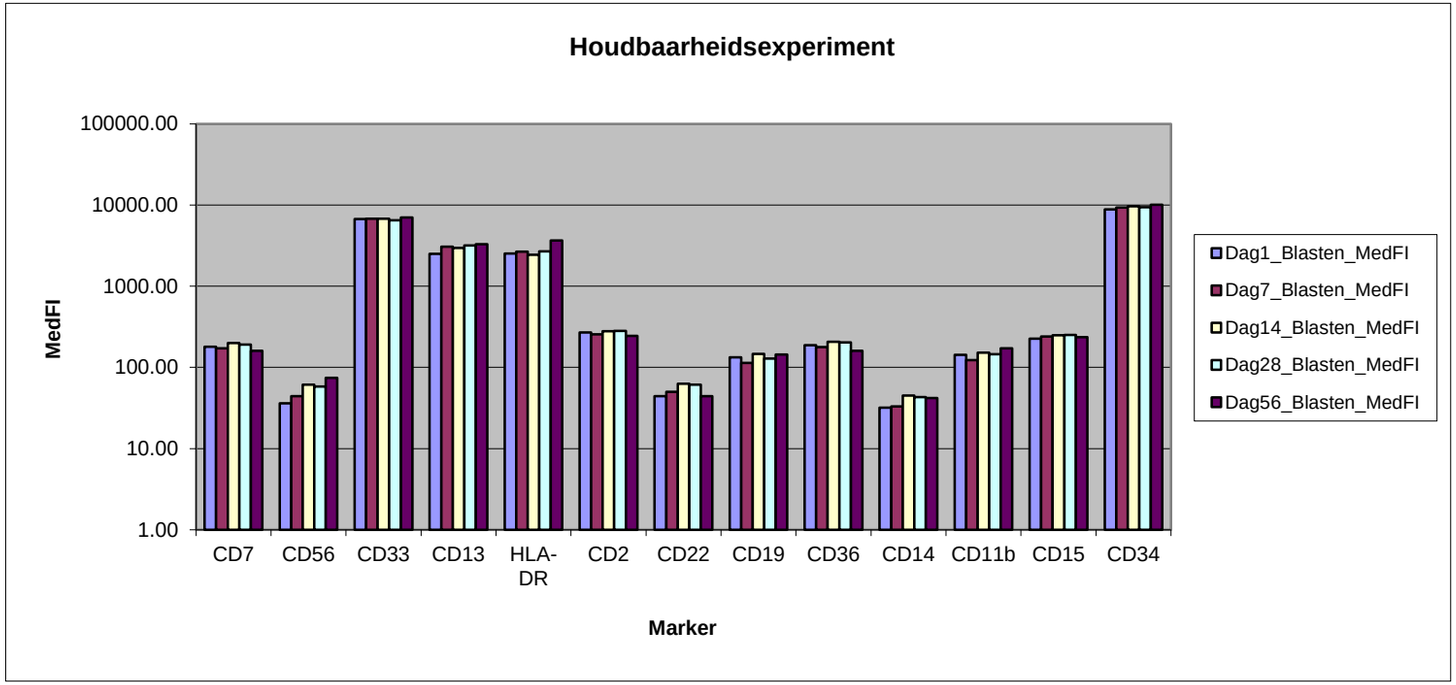
CD34+ blasten

MRD 2068

MRD 2068

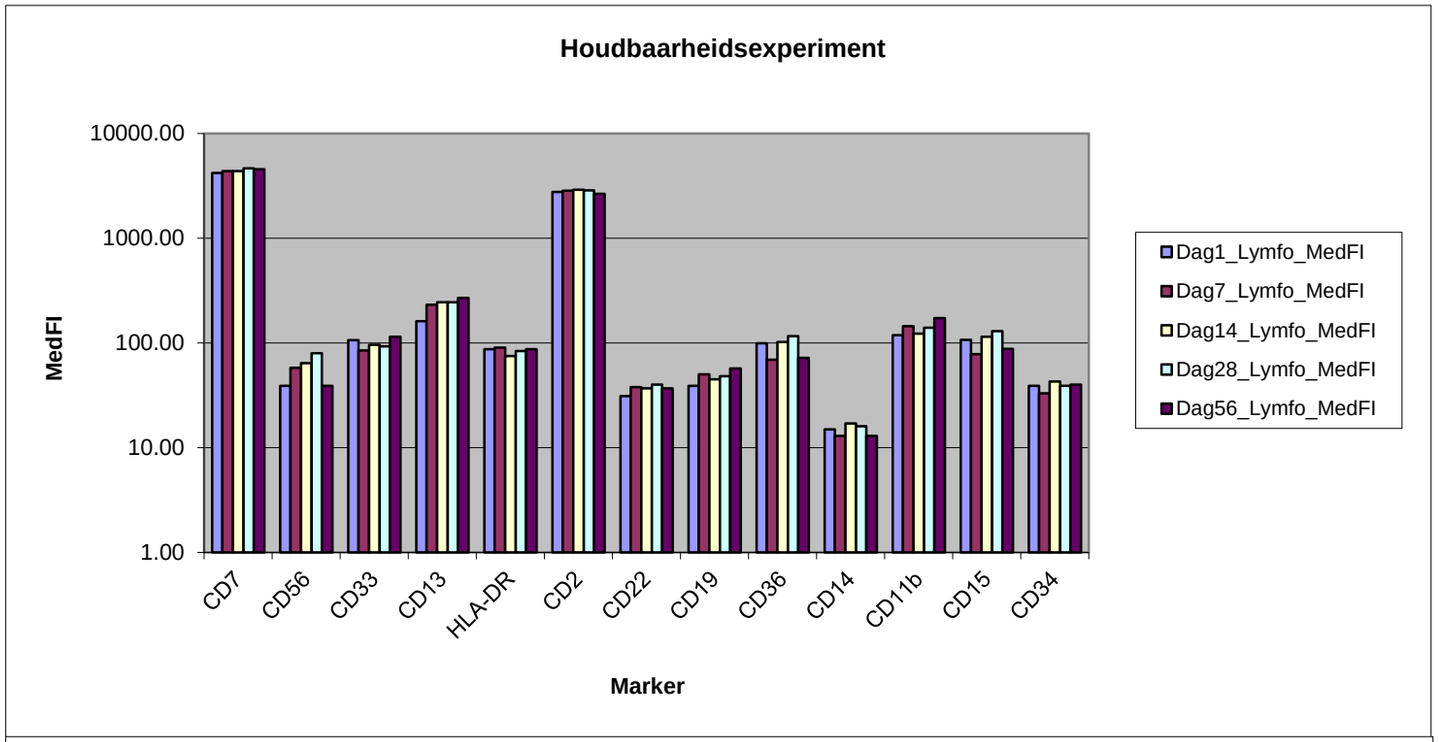


lymfocyten

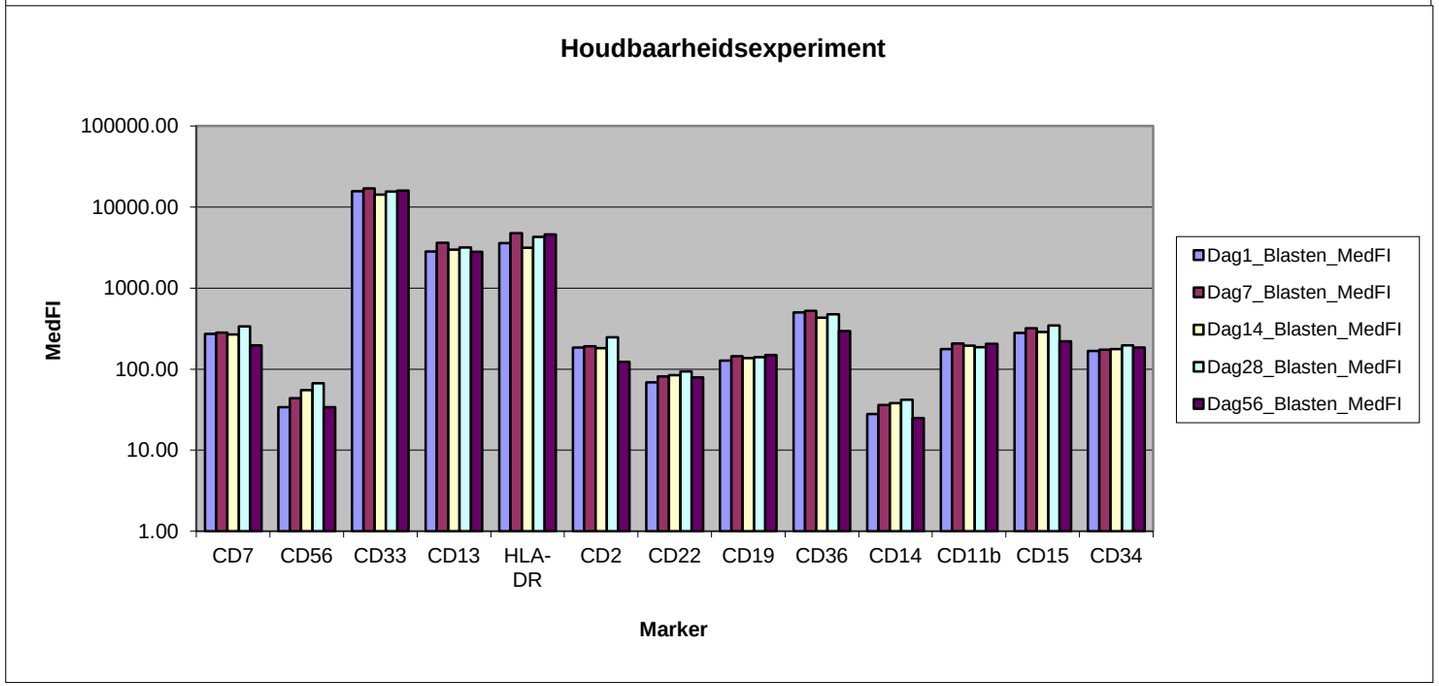


blasten

MRD 1621

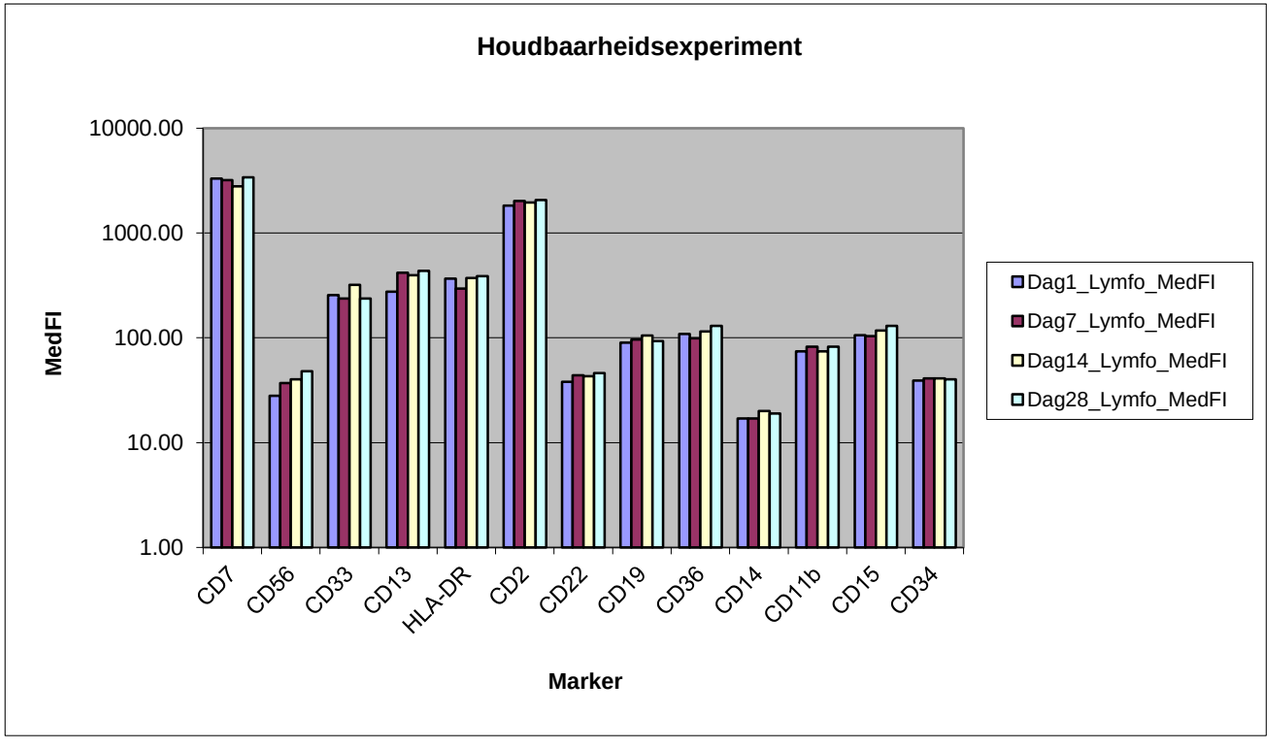


lymfocyten

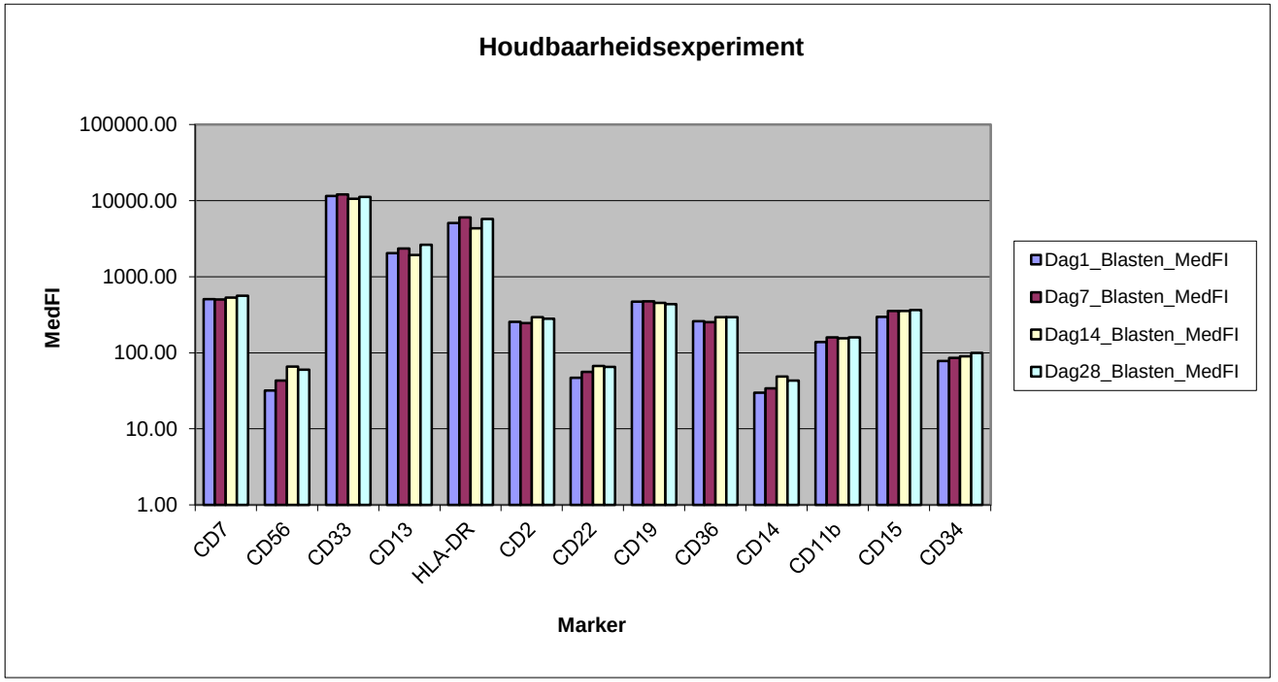


blasten

MRD 1743



lymfocyten



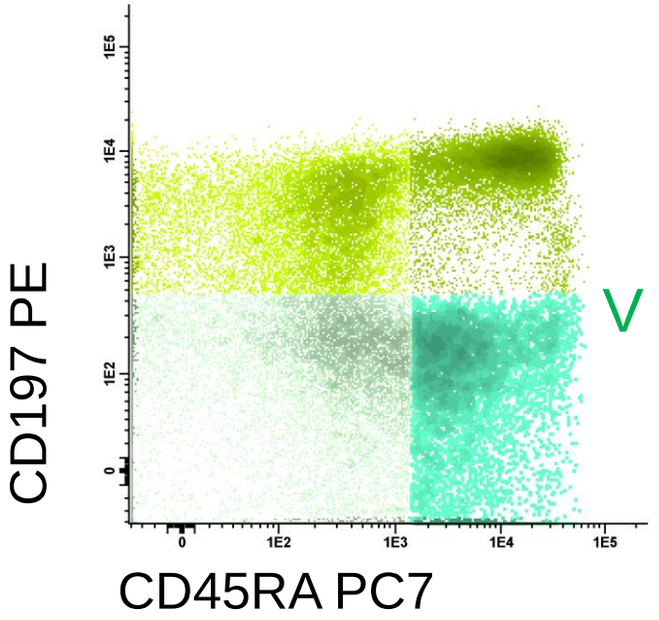
blasten

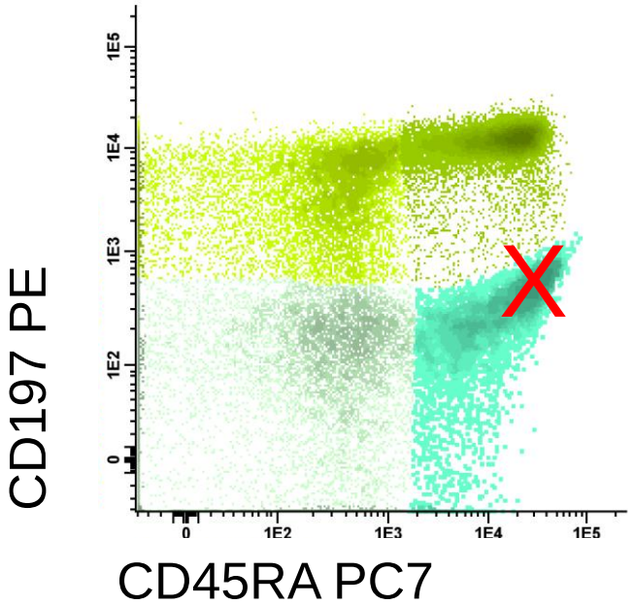
Conclusie

- Antistof cocktails met tandem-dyes zijn tenminste 2 maanden houdbaar mits de cocktail wordt bewaard onder bepaalde condities

Aanbevelingen

- Kijk tijdens het analyseren altijd naar de interne controles van het sample, zowel de positieve als de negatieve controles.
- Houd de cocktails met tandem-dyes zoveel mogelijk koel en donker
- Plaats in het analyse document ook plots om de tandem-dyes te controleren





VU Hematologie

Met dank aan

Department of Hematology
VU University Medical Center, CCA
Amsterdam, Netherlands

Diana Hanekamp
Willemijn Scholten
Sander Snel
Yvonne Oussoren-Brockhoff
Dennis Veldhuizen
Jennifer Scheick
Jannemieke Ham
Vivianne Alewijns
Maaike Heidinga

Jacqueline Cloos

ELN European LeukemiaNet

KWF KANKER BESTRIJDING

BD

MRD Working Party

VUmc - Cancer Center Amsterdam (CCA)
VUmc - Institute for Cancer and Immunology (V-ICI)