

Käytettäväksi perifeeristen mononukleaarisolujen keräykseen ja erottamiseen kokoverestä

PAKKAUSSELOSTE

In Vitro -diagnostiseen käyttöön

Pakkausseloste kattaa seuraavien käytön:

Leucosep™-putket (Luettelonumero: LTK.615)

Käyttötarkoitus

Leucosep-putket on tarkoitettu käytettäväksi perifeerisen veren mononukleaarisolujen (PBMC:t) keräykseen ja erottamiseen kokoverestä. Putket helpottavat PBMC-solujen erottamista kokoverestä käyttämällä polysakkaroosipohjaista gradienttierotusliuosta ennen näiden solujen käyttöä ELISPOT-testeissä.

Johdanto

ELISPOT-tekniikat hyödyntävät T-soluja PBMC-soluissa, jotka on erotettu kokoverestä. Yksi menetelmä näiden solujen erottamiseen edellyttää polysakkaroosipohjaisen gradienttierotusliuoksen käyttöä. Tähän menettelyyn sisältyy useita vaiheita, jotka on suoritettava huolellisesti optimaalisten tulosten varmistamiseksi. Leucosep-putkien käyttö vähentää vaiheiden määrää, tekee menettelystä selkeämmän ja lyhentää aikaa, jota tarvitaan erotustoimenpiteen suorittamiseen.

Menetelmän periaate

Leucosep-putket on kehitetty PBMC-solujen optimaalisen erotuksen saavuttamiseksi ihmisen kokoverestä tiheysgradienttisentrifugoinnin avulla. Leucosep-putkissa on huokoinen este läpinäkyvässä polypropeeniputkessa. Tämä biologisesti inertti este koostuu korkealuokkaisesta polyeteenistä. Leucosep-putki poistaa aikaavievän ja työlään näytemateriaalin kerrostuksen polysakkaroosipohjaisen gradienttierotusliuoksen päälle. Antikoaguloitu kokoveri sekoitetaan viljelyväliaineeseen ja kaadetaan sitten Leucosep-putkeen. Huokoinen este estää veren sekoittumisen erotusväliaineeseen. Sentrifugoinnin aikana PBMC:t erotetaan ei-toivotuista punasoluista niiden eroavien tiheyksien vuoksi ja kerätään rajapintaan erotusväliaineen yläpuolella. Kun erotus on tehty, este estää PBMC-kerroksen uudelleenkontaminoitumisen sen poiston aikana.

Varoitukset ja varotoimenpiteet

1. Vain *in vitro* -diagnostiseen käyttöön.
2. Vain ammattikäyttöön. Käyttäjät on koulutettava tämän menettelyn suorittamiseen.
3. Verinäytteitä on pidettävä mahdollisesti vaarallisina. Ihmisistä peräisin olevan materiaalin käsittelyssä on noudatettava huolellisuutta.
4. Kokoverinäytteiden ja testikomponenttien käsittely käytön, varastoinnin ja hävittämisen aikana on tehtävä asianmukaisissa kansallisissa biologisia vaaroja koskevissa turvallisuusohjeissa tai -määräyksissä määritettyjen menettelyjen mukaisesti.
5. Mahdollinen poikkeama suositelluista menettelyistä pipetöinnissä, pesutekniikoissa, sentrifugointiajoissa ja/tai lämpötiloissa voi muuttaa PBMC-solujen eristysten puhtautta ja vaikuttaa myöhempään testituloksiin.
6. Verinäytteitä ei saa ottaa Cell Preparation Tubes (CPT™, Becton Dickinson)- tai EDTA-verinäyteputkiin, koska ne eivät ole yhteensopivia Leucosep-putkien kanssa.
7. Kokoverinäytteitä ei saa laittaa jääkaappiin tai pakastimeen. Säilytä ja kuljeta verinäytteet laboratorioon lämpötila-alueella 18–25 °C tai 10–25 °C, jos näytteet on tarkoitettu käsiteltäviksi T-Cell Xtend® -reagenssin kanssa.
8. Verta ei saa varastoida yli 8 tuntia, tai yli 32 tuntia, jos se myöhemmin käsitellään T-Cell Xtend® -reagenssilla.
9. Käytä vain kertakäyttöisiä astioita laskimoverinäytteiden ottoon.
10. Ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
11. Käytä aseptista tekniikkaa tätä tuotetta käytettäessä.
12. Leucosep-putkia ei saa säilyttää suorassa valossa.
13. Älä käytä Leucosep-putkia, jos ne ovat vahingoittuneet, tai jos polysakkaroosipohjainen gradienttierotusliuos on pilaantunut, minkä osoittaa erottuvan keltaisen värin tai hiukkasmateriaalin esiintyminen kirkkaassa liuoksessa.
14. Leucosep-putkia ei saa käyttää uudelleen. Kukin putki on suunniteltu kertakäyttöön.
15. Noudata veren näytteenottoputken ohjeita kokoverinäytteen ottoon.

Mukana toimitetut materiaalit

Jokaisen laatikon sisältö:

50 Leucosep-putkea, jotka on esitätetty polysakkaroosipohjaisella gradienttierotusliuoksella.

CD, joka sisältää pakkausselosteen ja käyttöturvallisuustiedotteen.

Varastointi ja vakaus

Säilytä avaamattomana lämpötilassa 4–30 °C laatikkoon merkittyyn viimeiseen käyttöpäivään saakka. Säilytä avattua tuotetta huoneenlämmössä (18–25 °C) ja käytä 12 viikon sisällä ulkopussin avaamisesta, tai ennen laatikkoon merkittyä viimeistä käyttöpäivää, sen mukaan kumpi tulee ensin.

Tarvittavat laitteet ja materiaalit, jotka eivät sisälly pakkaukseen

1. Heparinisoidut verinäyteputket.
2. AIM-V®- ja RPMI-soluviljelyväliaine.
3. 15 mL:n sentrifugiputket.
4. Sentrifugi PBMC-solujen fraktiointiin, kapasiteetti vähintään 1000 x RCF ja pystyy ylläpitämään näytteitä huoneenlämmössä (18–25 °C).
5. Bioturvallisuuskaappi luokka 2 (BL 2) (suositeltu).
6. Pipetit ja steriilit pipettikärjet.
7. ELISPOT-pakkaus.
8. T-Cell *Xtend* -reagenssia saatetaan tarvita, mikäli käytetään yli 8 tuntia vanhoja näytteitä.

Menettely

Huomautus: Seuraavat vaiheet on suoritettava käyttämällä hyvän laboratorikäytännön periaatteita:

1. Varmista ennen käyttöä, että tarvittava määrä Leucosep-putkia on huoneenlämpöisiä (18–25 °C).
2. Jos polysakkaroosipohjainen gradienttierotusliuos on kerääntynyt huokoisen esteen (fritti) yläpuolelle, sentrifugoi Leucosep-putkia nopeudella 350 x g yhden minuutin ajan siirtääksesi polysakkaroosipohjaisen gradienttierotusliuoksen fritin alapuolelle.
3. Kääntelee kokoverinäytettä ylösalaisin ja sitten laimenna suhteessa 5 osaa verta 3 osaan AIM-V- tai RPMI-soluviljelyväliainetta 15 mL:n sentrifugiputkessa. Kääntelee sentrifugiputkea useaan kertaan sekoittaaksesi
4. Kaada laimennettu veri suoraan Leucosep-putkeen ja sentrifugoi nopeudella 1000 x g 10 minuutin ajan lämpötilassa 18-25 °C ilman jarrua.
5. Ime samea PBMC-kerros ja täytä ~10 mL:aa AIM-V:n tai RPMI:n kanssa 15 mL:n sentrifugiputkeen. Kääntelee sentrifugiputkea sekoittaaksesi.
6. Sentrifugoi nopeudella 600 x g 7 minuutin ajan. Heitä kelluva neste pois.
7. Suspensoi solusakka uudelleen AIM-V:llä tai RPMI:llä, täytä ~10 mL:aa AIM-V:llä tai RPMI:llä ja sentrifugoi nopeudella 350 x g 7 lisäminuutin ajan.
8. Heitä kelluva neste pois ja suspensoi solusakka uudestaan AIM-V-tilavuudessa (ei RPMI:llä), jota ELISPOT-testi vaatii.
9. Jos solut tarvitsevat antigeenistimulointia ELISPOT-testissä, laimenna solut sen mukaisesti AIM-V:llä (ei RPMI:llä).

Rajoitukset

1. Kuten muidenkin erotusmenetelmien kanssa, Leucosep-putket voivat muuttaa joidenkin PBMC-alajoukkojen osuutta (esim. T- ja B-solut) niistä, joita ei ole erotettu kokoverestä. Tämän muutoksen uskotaan olevan suhteellisen merkityksetön normaaleissa tapauksissa.

Laadunvalvonta

Osana yksittäisen laboratorion laadunvalvontatoimintaa solun laskennan menetelmät pitäisi suunnitella ja validoida, jotta varmistettaisiin, että riittävä määrä PBMC-soluja on saatu merkityksellistä testijärjestelmää varten. Lisäksi laadunvalvontatoimien tulisi hyödyntää niiden positiivisten ja negatiivisten kontrollien käyttöä, jotka on kehitetty varmistamaan T-solujen ennakoitu suorituskyky merkityksellisessä testijärjestelmässä.

Suorituskykyominaisuudet

Tuore veri

6 mL:aa verta saatiin 15 luovuttajalta. Jokaisen luovuttajan näytteet käsiteltiin 8 tunnin sisällä suonipistoksesta. Näytteet käsiteltiin Leucosep-putkilla, jotka oli täytetty polysakkaroosipohjaisella erotusväliaineella. Eristetyt solut olivat elinkykyisiä ja toimivia ELISPOT-kokeessa.

Varastoitu veri käyttämällä T-Cell *Xtend* -reagenssia

Verinäytteet 205 luovuttajalta saatiin ja käytettiin solun talteenottojen testaamiseen Leucosep-putkilla, jotka oli täytetty polysakkaroosipohjaisella erotusväliaineella. 6 mL:aa verta otettiin kultakin luovuttajalta, ja veri käsiteltiin 29–32 tunnin sisällä suonipistoksesta käyttämällä T-Cell *Xtend* -reagenssia.

Eristetyt solut olivat elinkykyisiä ja toimivia ELISPOT-kokeessa.

Huomautus: Suosittelemme, että käytetään 6 mL:aa verta luovuttajaa kohti. Veritilavuuden vähentyminen voi vaikuttaa solun talteenottoihin.

Ilmoittaminen vakavista häiritsevistä tapahtumista

Mikäli tähän laitteeseen liittyen on esiintynyt vakava häiritsevä tapahtuma, siitä pitää ilmoittaa Asiakaspalveluun. Euroopan unionin jäsenmaissa vakavista häiritsevistä tapahtumista on ilmoitettava myös maasi toimivaltaiselle viranomaiselle (valtionvirasto, joka on vastuussa in vitro -diagnostisista lääkeinnoista laitteista). Katso valtionhallinnon verkkosivustoilta tarkat tiedot yhteyden ottamiseksi toimivaltaiseen viranomaiseen. ”Vakava häiritsevä tapahtuma” tarkoittaa mitä tahansa tapahtumaa, joka suoraan tai epäsuoraan aiheutti, on saattanut aiheuttaa tai saattaisi aiheuttaa seuraavat:

- potilaan, käyttäjän tai muun henkilön kuoleman;
- tilapäisen tai pysyvän heikentymisen potilaan, käyttäjän tai muun henkilön terveydentilassa;
- vakavan kansanterveydellisen uhkan.

Asiakaspalvelun yhteystiedot

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Yhdistynyt
kuningaskunta
Puh.: +44 (0) 1235 442780
Sähköposti: info@oxfordimmunotec.com

Saat tuotteiden tukilataukset ja tekniset lisätiedot verkkosivustoltamme:
www.oxfordimmunotec.com

Vianmääritysohjeet PBMC-solujen keräyksessä ja erottelussa ELISPOT-testiä varten

Ongelma	Mahdollinen syy	Mahdollinen ratkaisu
Alhainen solujen saanti	<p>Leukopenia</p> <p>Virheellinen verinäytteenotto</p> <p>Verinäyteputki ei ollut huoneenlämmössä (18–25 °C)</p> <p>Verta ei ole säilytetty vaaditussa lämpötilassa</p> <p>Muiden kuin suositeltujen tilavuuksien tai laimenteiden käyttö</p>	<p>Lisää ylimääräinen verinäyteputki</p> <p>CPT- ja verinäyteputket, jotka sisältävät EDTA:ta, eivät ole yhteensopivia Leucosep-putkien kanssa</p> <p>Anna verinäyteputken tasaantua huoneenlämpötilaan</p> <p>Varmista, että verilähetyksen lämpötila on 18–25 °C tai 10–25 °C, jos T-Cell <i>Xtend</i> -reagenssia käytetään</p> <p>Varmista, että asianmukaisia ohjeita noudatetaan</p>
Punaverisolun kontaminaatio	<p>Verta ei ole säilytetty vaaditussa lämpötilassa</p> <p>Verinäyteputki ei ollut huoneenlämmössä (18–25 °C)</p> <p>Verta ei ole laimennettu</p> <p>Verinäytteen inversio Leucosep-putken sisällä</p> <p>Virheellinen sentrifugointi</p> <p>Näytteen erotus epätäydellinen</p>	<p>Varmista, että veri on kuljetettu lämpötilassa 18–25 °C tai 10–25 °C, jos T-Cell <i>Xtend</i> -reagenssia käytetään</p> <p>Anna verinäyteputken tasaantua huoneenlämpötilaan</p> <p>Varmista, että veri on laimennettu menettelyn mukaisesti</p> <p>Varmista, että Leucosep-putki pidetään pystyssä ennen sentrifugointia</p> <p>Varmista, että sentrifugointiohjeita noudatetaan</p> <p>Tarkasta, että sentrifugi pystyy jäähdyttämään lämpötilaan 18-25 °C</p> <p>Tarkasta, että sentrifugin jarru on kytketty pois päältä</p> <p>Lisää sentrifugointivaihetta 10 minuutilla</p>
Ei määriteltyä tai erottuvaa mononukleaarikerrosta	<p>Näytteen erotus epätäydellinen</p> <p>Sentrifugia ei ole kalibroitu asianmukaisesti</p> <p>Virheellinen sentrifugointi</p>	<p>Lisää sentrifugointivaihetta 10 minuutilla</p> <p>Kalibroi sentrifugi</p>

	Hyperlipeminen näyte	Varmista, että sentrifugointiohjeita noudatetaan Ota paastoverinäyte
Virheelliset tulokset	Useat erilaiset virheelliset käsittelyongelmat voivat aiheuttaa virheellisiä tuloksia	Katso osat yltä

Symbolisanasto

»	Viimeinen käyttöpäivä/Vanhentumispäivä (Vuosi-Kuukausi-Päivä)
3	Eränumero
4	Luettelonumero
'	Huomio, lue käyttöohjeet
ó	Valmistaja
i	Sisältö riittää "n" testiin
1	<i>In vitro</i> -diagnostinen laite
j	Lämpötilaraja/Varastointilämpötila-alue
²	Lue käyttöohjeet
e	EU Valtuutettu edustaja

T-Cell *Xtend* ja Oxford Immunotec -logo ovat Oxford Immunotec Limited -yhtiön rekisteröityjä tavaramerkkejä.

Leucosep on Greiner Bio-One -yhtiön tavaramerkki

AIM-V on Life Technologies Corporation -yhtiön tavaramerkki.

CPT on Becton, Dickinson and Company -yhtiön tavaramerkki.

T-Cell *Xtend* -reagenssin käyttö on suojattu seuraavilla patenteilla:

EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023, Oxford Immunotec Limited. Kaikki oikeudet pidätetään.

ó Valmistaja:

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Yhdistynyt
kuningaskunta www.oxfordimmunotec.com

e EU Valtuutettu edustaja:

Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Irlannin tasavalta

Versionumero	Julkaisupäivä	Muokkaukset
1–5	Tarkat tiedot saatavissa pyynnöstä Oxford Immunotec -yhtiöltä.	
6	Huhtikuu 2023	Ensimmäinen käännös aiheesta PI-LT.615-UK-V6