

За употреба при вземането и сепарирането на периферни мононуклеарни клетки
от цяла кръв

ЛИСТОВКА КЪМ КОМПЛЕКТА

За инвитро диагностична употреба

Листовката към комплекта обхваща използването на:

епруветки Leucosep™ (каталожен номер: LTK.615)

Предназначение

Епруветките Leucoser са предназначени за използване в областта на вземането на цяла кръв и сепарирането на мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC). Епруветките улесняват отделянето на PBMC от цяла кръв, като се използва градиентен разтвор за сепариране на основата на полизахароза, преди използването на тези клетки в тестове тип ELISPOT.

Въведение

Техниките ELISPOT използват Т-клетките от изолираните мононуклеарни клетки от периферна кръв, които са били отделени от цялата кръв. Един метод за отделяне на тези клетки изисква използването на градиентен разтвор за сепариране на основата на полизахароза. Тази процедура включва редица стъпки, които трябва да се извършват внимателно, за да бъдат гарантирани оптимални резултати. Използването на епруветките Leucoser намалява броя на стъпките, прави процедурата по-сигурна и намалява времето, необходимо за провеждане на процедурата по сепариране.

Принцип на метода

Епруветките Leucoser са разработени за постигане на оптимално отделяне на PBMC от човешка цяла кръв чрез центрофугиране с плътностен градиент. Епруветките Leucoser са с пореста преграда в прозрачна полипропиленова епруветка. Тази биологично инертна преграда се състои от висок клас полиетилен. Епруветките Leucoser елиминират трудното и отнемащо време наслояване на материала от пробата върху градиентен разтвор за сепариране на основата на полизахароза. Цялата кръв, третирана с антикоагуланти, се смесва с хранителна среда и след това се поставя в епруветка Leucoser. Порестата преграда предотвратява смесването на кръвта със сепарационната среда. По време на центрофугиране, мононуклеарните клетки от периферна кръв (PBMC) са отделени от нежеланите еритроцити поради техните различни плътности и са събрани в пространството над сепарационната среда. След завършване на сепарацията, бариерата предотвратява повторно замърсяване на слоя PBMC по време на отделянето му.

Предупреждения и предпазни мерки

1. Само за инвитро диагностична употреба.
2. Единствено за професионална употреба; персоналът трябва да бъде обучен в тази процедура.
3. Кръвните проби се считат за потенциално опасни. При работа с биологични материали е необходимо да се вземат всички необходими предпазни мерки.
4. Обработката на проби от цяла кръв и компонентите на теста по време на употребата, съхранението и унищожаването трябва да бъде в съответствие с процедурите, определени в съответните национални наредби за безопасност при работа с биологично опасни материали.
5. Всяко отклонение от препоръчаните процедури за пипетиране, техники на измиване, времетраене на центрофугирането и /или температури могат да повлияят чистотата при изолиране на мононуклеарните клетки от периферна кръв и да се повлияят последващите резултати от теста.
6. Да не се взема кръв в епруветки за приготвяне на клетки CPT™ на Becton Dickinson или епруветки EDTA за вземане на кръв, поради несъвместимост с епруветките Leucoser.
7. Да не се съхраняват в хладилник или замразяват проби с цяла кръв. Съхранението и транспортирането на кръвните проби към лабораторията да се извършва при температура между 18-25 °C или 10-25 °C, ако пробите трябва да се обработят с реагента TCell Xtend®.
8. Кръвта не трябва да се съхранява по -дълго от 8 часа или повече от 32 часа, ако е обработена с реагент T-Cell Xtend.
9. Да се използват единствено контейнери за взимане на венозна кръв за еднократна употреба.
10. Да не се използва след изтичане срока на годност.
11. Да се спазват асептични условия при използването на този продукт.
12. Не съхранявайте епруветките Leucoser на пряка слънчева светлина.

13. Не използвайте епруветките Leucoser, ако са повредени или ако градиентният разтвор за сепариране на основата на полизахароза е с влошени качества, което се вижда по появата на отличителен жълт цвят или твърди частици в бистрия разтвор.
14. Не използвайте повторно епруветките Leucoser. Всяка епруетка е предназначена за еднократна употреба.
15. Следвайте инструкциите на епруветките за вземане на кръвни проби относно вземането на проба цяла кръв.

Предоставени материали

Всяка кутия съдържа:

50 епруетки Leucoser, предварително напълнени с градиентен разтвор за сепариране на основата на полизахароза.

CD, съдържащ листовка към опаковката и информационен лист за безопасност на материалите (MSDS).

Съхранение и стабилност

Продуктът да се съхранява неотворен при температура 4-30 °C до изтичане срока на годност, отбелязан върху кутията. Съхранявайте отворения продукт на стайна температура (18-25 °C) и използвайте в рамките на 12 седмици след отваряне на външната опаковка или преди изтичане на срока на годност на кутията, който е по-рано.

Необходимо, но недоставено оборудване и материали

1. Епруетки за вземане на хепаринизирана кръв.
2. Среди за клетъчни култури AIM-V® и RPMI.
3. Центрофужни епруетки от 15 mL.
4. Центрофуга за фракциониране на мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC) с възможност за най-малко 1000 RCF (g) и възможност да поддържа пробите при стайна температура (18-25 °C).
5. Микробиологична камина клас 2 (BL 2) (препоръчително).
6. Пипети и стерилни върхове за пипети.
7. Набор ELISPOT.
8. Може да е необходим реагент T-Cell *Xtend*, ако пробите се обработват повече от осем часа след вземането им.

Процедура

Забележка: Следващите стъпки трябва да се извършват според принципите на Добрата Лабораторна Практика:

1. Уверете се, че необходимия брой епруетки Leucoser са поставени на стайна температура (18-25 °C) преди употреба.
2. Ако градиентният разтвор за сепариране на основата на полизахароза се е събрал над порестата преграда (фрита), центрофугирайте епруетките Leucoser при 350 x g за една минута, за да преместите градиентният разтвор за сепариране на основата на полизахароза под фрита.
3. Обърнете пробата с цяла кръв, след което разрежете в съотношение 5 части кръв към 3 части среда за клетъчна култура AIM-V или RPMI в 15 mL центрофужна епруетка. Обърнете центрофужната епруетка няколко пъти, за да се разбърка.
4. Изсипете разредената кръв директно в епруетката Leucoser и центрофугирайте при 1000 x g за 10 минути при 18-25 °C без спирачка.
5. Аспирирайте мътния слой с PBMC и допълнете до ~ 10 mL с AIM-V или RPMI в 15 mL центрофужна епруетка. Обърнете центрофужната епруетка, за да се разбърка.
6. Центрофугирайте при 600 x g за 7 минути. Отстранете супернатанта.
7. Ресуспендирайте клетъчния остатък с AIM-V или RPMI, допълнете до около 10 mL с AIM-V или RPMI и центрофугирайте при 350 x g за още 7 минути.
8. Отстранете супернатанта и ресуспендирайте клетъчния остатък в обем на AIM-V (**не RPMI**), изискван от теста ELISPOT.

9. Ако клетките са необходими за стимулиране чрез антиген в ELISPOT тест, разрежете клетките съответно с AIM-V (**не** RPMI).

Ограничения

1. Както и при другите методи за сепарация, епруветките Leucoser могат да променят съотношението на някои моноклеарни клетъчни подгрупи (напр. Т- и В-клетките) от тези, които са в несепарирана цяла кръв. Тази промяна се счита за относително незначителна в обичайните случаи.

Контрол на качеството

Като част от индивидуалния контрол на качеството на отделните лаборатории, методи за преброяване на клетките трябва да бъдат назначени и валидирани, за да се гарантира, че е получено достатъчно количество РВМС за съответната тестова система. Като допълнение, дейностите по контрол на качеството следва да включват положителните и отрицателните контроли разработени за осигуряване на очакваното представяне на Т-клетките в рамките на съответната тестова система.

Характеристики на ефективността

Прясна кръв

Беше взета 6 mL кръв от 15 донора. Пробите от всеки донор бяха обработени в рамките на 8 часа след венепункцията. Пробите бяха обработени с помощта на епруветки Leucoser, пълни със среда за сепариране на основата на полизахароза. Изолираните клетки бяха жизнеспособни и функционални в теста ELISPOT.

Съхраняване на кръв с използване на реагента T-Cell Xtend

Кръвни проби от 205 донора бяха получени и използвани за изследване на възстановяването на клетките с помощта на епруветки Leucoser, пълни със среда за сепариране на основата на полизахароза. Беше взета 6 mL кръв на донор, а кръвта беше обработена между 29-32 часа след венепункцията с помощта на реагента T-Cell Xtend.

Изолираните клетки бяха жизнеспособни и функционални в теста ELISPOT.

Забележка: препоръчва се да се използва 6 mL кръв на донор. Намалването на обема на кръвта може да се отрази на улавянето на клетките.

Съобщаване за сериозни инциденти

Ако е възникнал сериозен инцидент, който има връзка с това изделие, за него трябва да се съобщи на отдела за връзка с клиенти. За държавите – членки на Европейския съюз, сериозните инциденти трябва да бъдат съобщени и на компетентния орган (държавното ведомство, което отговаря за медицинските изделия за инвитро диагностика) във вашата държава. Моля, направете справка в уеб сайта на правителството за подробности относно влизането в контакт с компетентния орган. „Сериозен инцидент“ е всеки инцидент, който пряко или непряко е довел, може да е довел или би могъл да доведе до:

- смърт на пациент, потребител или друго лице;
- временно или трайно сериозно увреждане на здравословното състояние на пациент, потребител или друго лице;
- сериозна заплаха за общественото здраве.

Информация за контакт с отдела за връзка с клиенти

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Обединено кралство
Тел.: +44 (0) 1235 442780
Имейл: info@oxfordimmunotec.com

За изтегляне на материали за продуктите и допълнителна техническа информация, моля, посетете нашия уеб сайт:











www.oxfordimmunotec.com

Насоки за отстраняване на проблеми при вземане и сепариране на мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC) за ELISPOT

Проблем	Възможна причина	Възможно решение
Нисък клетъчен добив	Левкопения	Добавете допълнителна епруветка за вземане на кръв
	Неправилно вземане на кръв	CPT и епруветки за вземане на кръв, съдържащи EDTA, не са съвместими с епруветките Leucosep
	Епруветката за вземане на кръв не е на стайна температура (18-25 °C)	Оставете епруветката да се темперира на стайна температура
	Съхраняването на кръвта не е при необходимата температура	Уверете се, че кръвта се транспортира при температура 18-25 °C или 10-25 °C, ако се използва реагента TCell Xtend
	Използват се обеми или разреждания, различни от препоръчаните	Уверете се, че се спазват правилните инструкции

Проблем	Възможна причина	Възможно решение
Замърсяване с червени кръвни клетки	<p>Съхранението на кръвта не е при необходимата температура</p> <p>Епруветката за вземане на кръв не е на стайна температура (18-25 °C) Кръвта не е разрежена</p> <p>Обръщане на кръвната проба в епруветката Leucoser</p> <p>Неправилно центрофугиране</p> <p>Непълна сепарация на пробата</p>	<p>Уверете се, че кръвта се транспортира при температура 18-25 °C или 10-25 °C, ако се използва реагента TCell Xtend</p> <p>Оставете епруветката да се темперира на стайна температура</p> <p>Уверете се, че кръвта е разрежена според процедурата</p> <p>Уверете се, че епруветката Leucoser е поставена в изправено положение преди центрофугиране</p> <p>Уверете се, че са спазени инструкциите за центрофугиране</p> <p>Проверете дали центрофугата поддържа охлаждане при 18-25 °C</p> <p>Проверете дали е изключена спирачката на центрофугата</p> <p>Повишете времето на центрофугиране с 10 мин.</p>
Няма определен или отделен мононуклеарен слой	<p>Непълна сепарация на пробата</p> <p>Центрофугата не е правилно калибрирана</p> <p>Неправилно центрофугиране</p> <p>Хиперлипемична проба</p>	<p>Повишете времето на центрофугиране с 10 мин.</p> <p>Калибрирайте центрофугата</p> <p>Уверете се, че са спазени инструкциите за центрофугиране</p> <p>Вземете кръвна проба на гладно</p>
Невалидни резултати	Невалидни резултати могат да се получат поради различни проблеми с боравенето на пробите	Вижте разделите по-горе

Речник на символите

	Използвайте до изтичане срока на годност (Година-Месец-Ден)
	Партиден номер
	Каталожен номер
	Внимание, вижте инструкциите за употреба
	Производител
	Достатъчен за „ n”-на брой теста
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	Температурни ограничения/съхранявайте между
	Консултирайте се с инструкциите за употреба
	Упълномощен представител за ЕС

T-Cell *Xtend* и Oxford Immunotec лого са търговски марки на Oxford Immunotec Limited.
Leucoser е търговска марка на Greiner Bio-One
AIM-V е търговска марка на Life Technologies Corporation.
CPT е търговска марка на Becton, Dickinson and Company.

Употребата на реагента T-Cell *Xtend* е защитена от следните патенти:
EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2022, Oxford Immunotec Limited. Всички права запазени.

■ Производител:
Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Обединено кралство
www.oxfordimmunotec.com

EC REP Упълномощен представител за ЕС:
Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Република Ирландия

Преработка номер	Дата на издаване	Изменения
1 - 4	Подробности се предоставят при поискване от Oxford Immunotec.	
5	юни 2022 г.	Промяна в адреса на производителя. Добавяне на хронология на преработките. Добавяне на инструкции за съобщаване на сериозни инциденти. Добавете подробности за ЕС REP и вносител в Европейския съюз
6	октомври 2022 г.	Премахване на подробности за вносител в Европейския съюз



Oxford Immunotec Ltd.
143 Park Drive East, Milton Park,
Abingdon, Oxfordshire, OX14 4SE, UK.
Tel: +44 (0)1235 442780
Fax: +44 (0)1235 442781

www.oxfordimmunotec.com

