

Til brug ved indsamling og separation af perifere, enkernede blodceller fra fuldblod

## INDLÆGSSEDDEL

Til diagnostisk brug *in vitro*

Indlægssedlen omhandler brugen af:

Leucosep™-glas (katalognummer: LTK.615)

## Tilsligtet anvendelse

Leucosep-glas er beregnet til indsamling og separation af perifere, enkernede blodceller (PBMC'er) fra fuldblod. Glassene giver mulighed for separation af PBMC'er fra fuldblod ved hjælp af en polysukrose-baseret separationsopløsning inden brug af disse celler til ELISPOT-analyser.

## Indledning

ELISPOT-teknikker gør brug af T-celler i PBMC'er, der er blevet separeret fra fuldblod. En metode til separation af disse celler kræver brug af en polysukrose-baseret, gradient separationsopløsning. Denne procedure involverer en række trin, som bør udføres med forsigtighed for at sikre optimale resultater. Brugen af Leucosep-glas reducerer antallet af trin, gør proceduren mere pålidelig og reducerer det påkrævede tidsrum til udførelse af separationsproceduren.

## Funktionsprincip

Leucosep-glas er blevet udviklet med henblik på at opnå optimal separation af PBMC'er fra humant fuldblod ved brug af densitetsgradient centrifugering. Leucosep-glas består af en porøs barriere i et transparent polypropylenglas. Denne biologisk inerte barriere består af polyætylen af høj kvalitet. Leucosep-glasset eliminerer den tidskrævende og omstændelige lagdeling af prøvematerialet til fordel for en polysukrose-baseret, gradient separationsopløsning. Antikoaguleret fuldblod blandes med dyrkningsmedier og overføres derefter til Leucosep-glasset. Den porøse barriere forhindrer, at blodet blandes med separationsmediet. Under centrifugering separeres PBMC'erne fra uønskede erythrocytter på grund af deres divergerende densiteter og samles i grænsefladen over separationsmediet. Når separationen er fuldendt, forhindrer barrieren krydskontamination af PBMC-laget under fjernelse af dette.

## Advarsler og forholdsregler

1. Kun til diagnostisk brug *in vitro*.
2. Kun til laboratoriebrug. Brugere skal være uddannede i udførelse af denne procedure.
3. Blodprøver bør betragtes som værende potentielt sundhedsfarlige. Der bør udvises forsigtighed ved håndtering af materialer af human oprindelse.
4. Håndtering, opbevaring og bortskaffelse af fuldblodprøver og analysekomponenter bør foregå i overensstemmelse med procedurer beskrevet i relevante, nationale sikkerhedsanalyser og retningslinjer vedr. håndtering miljøfarlige materialer.
5. Enhver afvigelse fra anbefalede procedurer vedr. pipettering, rengøringsprocedurer, centrifugeringstider og/eller -temperaturer kan ændre renhedsgraden af PBMC-udskillelser og påvirke efterfølgende testresultater.
6. Undlad at indsamle blod i celleforberedelsesglas (CPT™, Becton Dickinson) eller EDTA-blodindsamlingsglas, da disse ikke er kompatible med Leucosep-glas.
7. Fuldblodprøver må ikke opbevares i køleskab eller fryser. Blodprøver skal opbevares og transporteres til laboratoriet ved temperaturer mellem 18 og 25 °C eller 10 og 25 °C, hvis prøverne skal behandles med T-Cell *Xtend*®-reagens.
8. Blod bør ikke opbevares i mere end 8 timer eller 32 timer, hvis det senere er blevet behandlet med T-Cell *Xtend*-reagens.
9. Benyt kun engangsbeholdere til indsamling af veneblodprøver.
10. Undgå overskridelse af udløbsdatoen.
11. Brug aseptiske teknikker ved brug af dette produkt.
12. Leucosep-glas må ikke udsættes for direkte sollys.
13. Undlad at tage Leucosep-glas i brug, hvis de er beskadigede, eller hvis den polysukrose-baserede, gradient separationsopløsning er blevet kompromitteret, dvs. har en tydelig gul farve eller er ændret til partikelstof i en klar opløsning.
14. Leucosep-glas må ikke genanvendes. Hvert enkelt glas er designet til engangbrug.
15. Følg instruktionerne til blodindsamlingsglas ved indsamling af fuldblod.

## Medfølgende materialer

Hvis æske indeholder:

50 Leucosep-glas forfyldte med polysukrose-baseret, gradient separationsopløsning.

CD med indlægsseddel og materialesikkerhedsdatablad.

## Opbevaring og stabilitet

Opbevares ved 4-30 °C uåbnet frem til udløbsdatoen, som er angivet på æsken. Det uåbnede produkt skal opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) og anvendes senest 12 uger efter åbning af den ydre emballage eller før udløbsdatoen på æsken, hvad end der indtræffer først.

## Påkrævet udstyr og materiale, der ikke medfølger

1. Heparinbehandlede blodindsamlingsglas.
2. AIM-V<sup>®</sup>-og RPMI-celledyrkningsmedier.
3. 15 mL centrifugeglas.
4. En centrifuge til fraktionering af PBMC'er, der kan levere mindst 1000 RCF (g) og er i stand til at opbevare prøver ved stuetemperatur (18-25 °C).
5. Kabinet med (anbefalet) biosikkerhedsniveau 2 (BL 2).
6. Pipetter og sterile pipettespidser.
7. ELISPOT-sæt.
8. T-Cell *Xtend*-reagens muligvis påkrævet, hvis de anvendte prøver er mere end 8 timer gamle.

## Procedure

Bemærk: Følgende trin bør udføres i overensstemmelse med god laboratoriepraksis:

1. Kontroller, at det påkrævede antal Leucosep-glas opbevares ved stuetemperatur (18-25 °C) inden ibrugtagning.
2. Hvis den polysukrose-baserede, gradiente separationsopløsning har samlet sig over den porøse barriere (porcelænsmasse), skal Leucosep-glassene centrifugeres ved 350 x g i et minut for at flytte den polysukrose-baserede, gradiente separationsopløsning ned under porcelænsmassen.
3. Vend bunden i vejret på fuldblodprøven, og fortynd den ved et forhold på 5 dele blod og 3 dele AIM-V- eller RPMI-celledyrkningsmedium i et 15 mL centrifugeglas. Vend bunden i vejret på centrifugeglasset flere gange for at blande opløsningen.
4. Overfør det fortyndede blod direkte til Leucosep-glasset, og centrifuger det ved 1000 x g i 10 minutter ved 18-25 °C uden pause.
5. Aspirer det grumsede PBMC-lag, og udmål til ca. 10 mL med AIM-V- eller RPMI-celledyrkningsmedium i et 15 mL centrifugeglas. Vend bunden i vejret på centrifugeglasset for at blande opløsningen.
6. Centrifuger ved 600 x g i 7 minutter. Kasser supernatanten.
7. Genopslæm cellepillen med AIM-V- eller RPMI-celledyrkningsmedium, udmål til ca. 10 mL med AIM-V- eller RPMI-celledyrkningsmedium, og centrifuger ved 350 x g i yderligere 7 minutter.
8. Kasser supernatanten, genopslæm cellepillen i en mængde svarende til AIM-V-celledyrkningsmediet (**ikke** RPMI), der er påkrævet til udførelse af ELISPOT-analysen.
9. Hvis celler kræves til antigenstimulation i forbindelse med ELISPOT-analyse, skal cellerne fortyndes til dette formål ved hjælp af AIM-V-celledyrkningsmedium (**ikke** RPMI).

## Begrænsninger

1. Som med andre separationsmetoder kan Leucosep-glas ændre proportionen af visse PBMC-undersæt (f.eks. T- og B-celler) i forhold til undersæt i ikke-separeret fuldblod. Denne ændring menes at være forholdsvis ubetydelig under normale betingelser.

## Kvalitetskontrol

Celletællingsmetoder bør udarbejdes og valideres, som en del af et enkelt laboratories kvalitetskontrolprocedurer, for at sikre, at der er opnået tilstrækkelige PBMC'er til det relevante

testsystem. Derudover bør der anvendes kvalitetskontrolprocedurer for brug af positive og negative kontroller udarbejdet til at sikre den forventede T-celleydelse i det relevante testsystem.

## **Ydelseegenskaber**

### Frisk blod

6 mL blod blev indsamlet fra 15 donorer. Prøver fra hver donor blev behandlet senest 8 timer efter venepunktur. Prøver blev behandlet ved brug af Leucosep-glas fyldt med polysukrose-baserede separationsmedier. Udskilte celler var levedygtige og funktionsdygtige i ELISPOT-analysen.

### Blod opbevaret vha. T-Cell Xtend-reagens

Blodprøver fra 205 donorer blev indsamlet og anvendt til analyse af celleudskillelser ved brug af Leucosep-glas fyldt med polysukrose-baserede separationsmedier 6 mL blod blev indsamlet pr. donor, og blodet blev behandlet senest 29-32 timer efter venepunktur ved hjælp af T-Cell Xtend-reagens.

Udskilte celler var levedygtige og funktionsdygtige i ELISPOT-analysen.

Bemærk: Det anbefales at indsamle 6 mL blod pr. donor. En nedsat blodvolumen kan påvirke celleudskillelsesmængden.

## **Indberetning af alvorlige hændelser**

Hvis der opstår en alvorlig hændelse i forbindelse med brugen af denne enhed, skal hændelsen indberettes til kundeservice. Inden for EU skal alvorlige hændelser i medlemslande desuden indberettes til den kompetente myndighed (den offentlige forvaltning, der er ansvarlig for in vitro-diagnostisk udstyr) i det pågældende land. Se myndighedernes website for kontaktoplysninger til den kompetente myndighed. En 'alvorlig hændelse' betyder en hændelse, der direkte eller indirekte har medført eller kunne medføre:

- en patients, brugers eller anden persons død
- midlertidig eller permanent alvorlig forværring af en patients, brugers eller anden persons helbred
- en alvorlig trussel mod folkesundheden.

## **Kontaktoplysninger til kundeservice**

Oxford Immunotec Ltd  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon  
Oxfordshire, OX14 4SE, UK  
Tlf.: +44 (0) 1235 442780  
Email: [info@oxfordimmunotec.com](mailto:info@oxfordimmunotec.com)











For download af produktsupport og yderligere teknisk information henvises til vores website: [www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

### Fejlfinding ifm. indsamling og separation af PBMC'er til udførelse af ELISPOT-analyse

Problem	Mulig årsag	Mulig løsning
Lav cellemængde	Leukopeni	Tilføj et ekstra blodindsamlingsglas
	Forkert blodindsamling	CPT- og blodindsamlingsglas, der indeholder EDTA, er ikke kompatible med Leucosep-glas
	Blodindsamlingsglas er ikke ved stuetemperatur (18-25 °C)	Vent, indtil blodindsamlingsglasset når stuetemperatur
	Blodopbevaring er ikke ved den påkrævede temperatur	Kontroller, at blodforsendelsen er ved 18-25 °C eller 10-25 °C, hvis der er anvendt T-Cell <i>Xtend</i> -reagens
	Brug af andre volumener eller fortyndinger end de anbefalede	Sørg for at følge brugsvejledningen
Erythrocytkontamination	Blodopbevaring er ikke ved den påkrævede temperatur	Kontroller, at blodforsendelsen er ved 18-25 °C eller 10-25 °C, hvis der er anvendt T-Cell <i>Xtend</i> -reagens
	Blodindsamlingsglas er ikke ved stuetemperatur (18-25 °C)	Vent, indtil blodindsamlingsglasset når stuetemperatur
	Blod er ikke fortyndet	Sørg for, at blodet er fortyndet iht. den anbefalede procedurer
	Vend bunden i vejret på blodprøven i Leucosep-glasset	Sørg for, at Leucosep-glasset forbliver opretstående inden centrifugering
	Forkert centrifugering	Sørg for at følge centrifugeringsvejledningen  Kontroller, at centrifugen er kompatibel med centrifugering ved 18-25 °C  Kontroller, at centrifugebremsen er slået fra
	Prøveseparation ufuldstændig	Øg centrifugeringstiden med 10 min.

Problem	Mulig årsag	Mulig løsning
Intet defineret eller tydeligt enkernet cellelag	Prøveseparation ufuldstændig  Centrifuge er ikke korrekt kalibreret  Forkert centrifugering  Hyperlipemisk prøve	Øg centrifugeringstiden med 10 min.  Kalibrer centrifugen korrekt  Sørg for at følge centrifugeringsvejledningen  Indsaml frisk blodprøve
Ugyldige resultater	Ugyldige resultater kan være forårsaget af en række ukorrekte prøvehåndteringsbetingelser	Se afsnittede ovenfor

### Symbolforklaring

-  Anvendes inden/Udløbsdato (år-måned-dag)
-  Batchnummer
-  Katalognummer
-  Bemærk, læs brugsanvisningen
-  Producent
-  Kompatibel med "n"-test
-  Kun til diagnostisk brug *in vitro*
-  Temperaturbegrænsning/Opbevaringstemperatur
-  Læs brugsanvisningen
-  Autoriseret repræsentant i EU

T-Cell *Xtend* og Oxford Immunotec-logoet er varemærker tilhørende Oxford Immunotec Limited.

Leucosep er et varemærke tilhørende Greiner Bio-One

AIM-V er et varemærke tilhørende Life Technologies Corporation.

CPT er et varemærke tilhørende Becton, Dickinson and Company.

Brugen af T-Cell *Xtend*-reagens er beskyttet af følgende patenter og anmeldte patenter:

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

© 2022, Oxford Immunotec Limited. Alle rettigheder forbeholdes.

■ Producent:  
Oxford Immunotec Ltd  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon  
Oxfordshire, OX14 4SE, Storbritannien  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

**EC REP** Autoriseret repræsentant i EU:  
Oxford Immunotec (Ireland)  
Unit 3d North Point House,  
North Point Business Park,  
New Mallow Road,  
Cork, T23 AT2P  
Irland

Revisionsnummer	Udstedelsesdato	Modifikationer
1 - 4	Yderligere detaljer fås efter anmodning til Oxford Immunotec.	
5	Juni 2022	Ændring af producentadresse. Tilføjelse af revisionshistorik. Tilføjelse af instruktioner til indberetning af alvorlige hændelser, og detaljer for EC REP og Importør i EU.
6	oktober 2022	Slet detaljer for Importør i EU



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](http://www.oxfordimmunotec.com)

