

# Leucosep™ Tubes



Για χρήση στη συλλογή και τον διαχωρισμό μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος από το ολικό αίμα

## ΕΝΘΕΤΟ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Για διαγνωστική χρήση *In Vitro*

Αυτό το Εσώκλειστο Οδηγιών περιγράφει τη χρήση του προϊόντος:

Leucosep™ Tubes (Αριθμός καταλόγου: LTK.615)

## Προβλεπόμενη χρήση

Τα σωληνάρια Leucoser προορίζονται για χρήση στη συλλογή και τον διαχωρισμό μονοπύρηνων κυττάρων του περιφερικού αίματος (ΜΚΠΑ) από το ολικό αίμα. Τα σωληνάρια διευκολύνουν τον διαχωρισμό των ΜΚΠΑ από το ολικό αίμα χρησιμοποιώντας ένα διάλυμα διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη, πριν από τη χρήση αυτών των κυττάρων σε αναλύσεις ELISPOT.

## Εισαγωγή

Στις τεχνικές ELISPOT χρησιμοποιούνται Τ-κύτταρα σε ΜΚΠΑ που έχουν διαχωριστεί από ολικό αίμα. Μία μέθοδος διαχωρισμού αυτών των κυττάρων απαιτεί τη χρήση διαλύματος διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη. Αυτή η διαδικασία περιλαμβάνει μια σειρά βημάτων που θα πρέπει να εκτελούνται με προσοχή για να εξασφαλίζονται τα βέλτιστα αποτελέσματα. Η χρήση των σωληναρίων Leucoser μειώνει τον αριθμό των βημάτων, καθιστά τη διαδικασία πιο αξιόπιστη και μειώνει τον χρόνο που απαιτείται για την εκτέλεση της διαδικασίας διαχωρισμού.

## Αρχές της Μεθόδου

Τα σωληνάρια Leucoser έχουν σχεδιαστεί για τον βέλτιστο διαχωρισμό ΜΚΠΑ από ολικό ανθρώπινο αίμα μέσω φυγοκέντρησης με διαβάθμιση πυκνότητας. Τα σωληνάρια Leucoser ενσωματώνουν έναν πορώδη φραγμό σε έναν διάφανο σωλήνα πολυπροπυλενίου. Αυτός βιολογικά αδρανής φραγμός αποτελείται από πολυαιθυλένιο υψηλής ποιότητας. Το σωληνάριο Leucoser εξαλείφει την χρονοβόρα και επίπονη δημιουργία στοιβάδων του υλικού του δείγματος πάνω σε διάλυμα διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη. Το ολικό αίμα με αντιπηκτικό αναμιγνύεται με θρεπτικά υλικά καλλιέργειας και στη συνέχεια τοποθετείται μέσα στο σωληνάριο Leucoser. Ο πορώδης φραγμός εμποδίζει την ανάμιξη του αίματος με το μέσο διαχωρισμού. Κατά τη διάρκεια της φυγοκέντρησης, τα ΜΚΠΑ διαχωρίζονται από τα ανεπιθύμητα ερυθροκύτταρα λόγω της διαφορετικής τους πυκνότητας και συλλέγονται στην επιφάνεια επαφής πάνω από το μέσο διαχωρισμού. Όταν ολοκληρωθεί ο διαχωρισμός, ο φραγμός εμποδίζει την εκ νέου επιμόλυνση της στοιβάδας ΜΚΠΑ κατά την αφαίρεσή της.

## Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

1. Αποκλειστικά για διαγνωστική χρήση *in vitro*.
2. Αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση. Οι χειριστές πρέπει να είναι εκπαιδευμένοι σε αυτή τη διαδικασία.
3. Τα δείγματα αίματος πρέπει να θεωρούνται δυνητικώς επικίνδυνα. Ο χειρισμός υλικού ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να γίνεται με προσοχή.
4. Ο χειρισμός δειγμάτων ολικού αίματος και συστατικών ανάλυσης κατά τη χρήση, την αποθήκευση και την απόρριψή τους θα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις διαδικασίες που ορίζονται οι ισχύοντες εθνικοί κανονισμοί ή οδηγίες περί ασφάλειας από βιολογικούς κινδύνους.
5. Οποιαδήποτε απόκλιση από τις συνιστώμενες διαδικασίες για τη χορήγηση με πιπέτα, τις τεχνικές πλήυσης, τους χρόνους ή/και τις θερμοκρασίες φυγοκέντρησης μπορεί να μεταβάλει την καθαρότητα των απομονώσεων των ΜΚΠΑ και να επηρεάσει τα επακόλουθα αποτελέσματα των δοκιμών.
6. Μη συλλέγετε αίμα σε σωληνάρια προετοιμασίας κυττάρων (CPT™, Becton Dickinson) ή σε σωληνάρια συλλογής αίματος με EDTA, καθώς αυτά δεν είναι συμβατά με τα σωληνάρια Leucoser.
7. Μην ψύχετε ή καταψύχετε τα δείγματα ολικού αίματος. Αποθηκεύετε και μεταφέρετε τα δείγματα αίματος στο εργαστήριο σε θερμοκρασίες μεταξύ 18 και 25 °C, ή 10-25 °C, αν τα δείγματα πρόκειται να υποβληθούν σε επεξεργασία με το αντιδραστήριο TCell Xtend®
8. Το αίμα δεν πρέπει να αποθηκεύεται πέραν των 8 ωρών, ή των 32 ωρών αν πρόκειται να υποβληθεί στη συνέχεια σε επεξεργασία με το αντιδραστήριο T-Cell Xtend.
9. Χρησιμοποιείτε αποκλειστικά δοχεία μίας χρήσης για τη συλλογή δειγμάτων φλεβικού αίματος.
10. Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν πέραν της ημερομηνίας λήξης.
11. Χρησιμοποιείτε άσηπτες τεχνικές κατά τη χρήση αυτού του προϊόντος.
12. Μην αποθηκεύετε τα σωληνάρια Leucoser σε σημείο όπου είναι απευθείας εκτεθειμένα στο φως.
13. Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια Leucoser εάν έχουν φθαρεί ή εάν το διάλυμα διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη έχει αλλοιωθεί, όπως υποδεικνύεται από την

εμφάνιση ενός χαρακτηριστικού κίτρινου χρώματος ή υλικού σε μορφή σωματιδίων στο διαυγές διάλυμα.

14. Μην επαναχρησιμοποιείτε τα σωληνάρια Leucosep. Κάθε σωληνάριο έχει σχεδιαστεί για μία μόνο χρήση.
15. Ακολουθήστε τις οδηγίες του σωληναρίου συλλογής δειγμάτων αίματος για τη συλλογή ολικού αίματος.

### **Παρεχόμενα υλικά**

Το κάθε κουτί περιέχει:

50 σωληνάρια Leucosep που περιέχουν διάλυμα διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη

CD το οποίο περιέχει το ένθετο συσκευασίας και το δελτίο δεδομένων ασφάλειας υλικού (MSDS).

### **Αποθήκευση και σταθερότητα**

Πριν το άνοιγμα αποθηκεύεται στους 4-30 °C έως την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί. Μετά το άνοιγμα αποθηκεύεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C) και καταναλώνεται εντός 12 εβδομάδων από το άνοιγμα της εξωτερικής συσκευασίας, ή πριν από την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί, ανάλογα με το ποιο από τα δύο θα συμβεί πρώτο.

### **Εξοπλισμός και υλικά που απαιτούνται, αλλά δεν παρέχονται**

1. Σωληνάρια συλλογής ηπαρινισμένου αίματος.
2. Θρεπτικά υλικά καλλιέργειας κυττάρων AIM-V® και RPMI.
3. Σωληνάρια φυγοκέντρησης 15 mL.
4. Μια συσκευή φυγοκέντρησης για τον κλασματικό διαχωρισμό των ΜΚΠΑ, με δυνατότητα τουλάχιστον 1000 RCF (g) και ικανότητα διατήρησης των δειγμάτων σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C).
5. Ερμάριο με επίπεδο βιοασφάλειας 2 (BL 2) (συνιστάται).
6. Πιπέτες και αποστειρωμένα ρύγχη πιπέτας.
7. Κιτ ELISPOT.
8. Μπορεί να χρειαστεί αντιδραστήριο T-Cell *Xtend*, εφόσον χρησιμοποιηθούν δείγματα διάρκειας άνω των 8 ωρών

### **Διαδικασία**

Σημείωση: Τα παρακάτω βήματα πρέπει να εκτελεστούν χρησιμοποιώντας τις αρχές της ορθής εργαστηριακής πρακτικής:

1. Εξασφαλίστε ότι ο απαιτούμενος αριθμός σωληναρίων Leucosep βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25° C) πριν από τη χρήση.
2. Εάν το διάλυμα διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη έχει συγκεντρωθεί πάνω από τον πορώδη φραγμό (πορώδες φίλτρο), φυγοκεντρίστε τα σωληνάρια Leucosep στα 350 x g για ένα λεπτό για να μετακινηθεί το διάλυμα διαχωρισμού βαθμίδωσης με βάση την πολυσακχαρόζη κάτω από το πορώδες φίλτρο.
3. Αναποδογυρίστε το δείγμα ολικού αίματος, εν συνεχεία αραιώστε σε αναλογία 5 μερών αίματος προς 3 μέρη θρεπτικού υλικού καλλιέργειας κυττάρων AIM-V ή RPMI σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης 15 mL. Αναποδογυρίστε το σωληνάριο φυγοκέντρησης αρκετές φορές για να αναμίξετε.
4. Τοποθετήστε το αραιωμένο αίμα απευθείας στο σωληνάριο Leucosep και φυγοκεντρίστε στα 1000 x g για 10 λεπτά, στους 18-25 °C, χωρίς πέδη
5. Εκτελέστε αναρρόφηση της θολερής στοιβάδας των ΜΚΠΑ και συμπληρώστε έως τα ~10mL με AIM-V ή RPMI σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης 15 mL Αναποδογυρίστε το σωληνάριο φυγοκέντρησης για να αναμίξετε.
6. Φυγοκεντρίστε στα 600 x g για 7 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό.
7. Κάντε ξανά αιώρηση του κυτταρικού ιζήματος με AIM-V ή RPMI, συμπληρώστε έως τα ~10 mL με AIM-V ή RPMI και φυγοκεντρίστε στα 350 x g για άλλα 7 λεπτά.
8. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό και κάντε ξανά αιώρηση του κυτταρικού ιζήματος στον όγκο του AIM-V (όχι RPMI) που απαιτείται από την ανάλυση ELISPOT.

9. Εάν απαιτούνται κύτταρα για αντιγονική διέγερση σε μια ανάλυση ELISPOT, αραιώστε τα κύτταρα αναλόγως με AIM-V (όχι RPMI).

### **Περιορισμοί**

1. Όπως συμβαίνει και με τις άλλες μεθόδους διαχωρισμού, τα σωληνάκια Leucosep ενδέχεται να μεταβάλουν την αναλογία ορισμένων υποσυνόλων ΜΚΠΑ (π.χ. Τ και Β κύτταρα) σε σύγκριση με εκείνα σε μη διαχωρισμένο ολικό αίμα. Αυτή η μεταβολή θεωρείται ότι είναι σχετικά ασήμαντη σε συνήθεις περιπτώσεις.

### **Ποιοτικός έλεγχος**

Στο πλαίσιο μιας δραστηριότητας ποιοτικού ελέγχου του κάθε εργαστηρίου, οι μέθοδοι μέτρησης κυττάρων πρέπει να σχεδιάζονται και να επικυρώνονται με τρόπο ώστε να εξασφαλίζεται ότι έχουν ληφθεί επαρκή ΜΚΠΑ για το σχετικό σύστημα εξέτασης. Επιπλέον, στις δραστηριότητες ποιοτικού ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιούνται θετικοί και αρνητικοί μάρτυρες που έχουν παρασκευαστεί με τρόπο ώστε να εξασφαλίζεται η αναμενόμενη απόδοση των Τ κυττάρων εντός του σχετικού συστήματος εξέτασης.

### **Χαρακτηριστικά απόδοσης**

#### Φρέσκο αίμα

6 mL αίματος ελήφθησαν από 15 δότες. Τα δείγματα από τον κάθε δότη υποβλήθηκαν σε επεξεργασία σε διάστημα 8 ωρών από την παρακέντηση. Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με τη χρήση σωληναρίων Leucosep πληρωμένα με μέσο διαχωρισμού με βάση την πολυσακχαρόζη. Τα απομονωμένα κύτταρα ήταν επαρκή και λειτουργικά στην ανάλυση ELISPOT.

#### Αίμα αποθηκευμένο με αντιδραστήριο T-Cell Xtend

Δείγματα από 205 δότες ελήφθησαν και χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση κυτταρικών ανακτήσεων με σωληνάκια Leucosep πληρωμένα με μέσο διαχωρισμού με βάση την πολυσακχαρόζη. 6 mL αίματος ελήφθησαν ανά δότη και το αίμα υποβλήθηκε σε επεξεργασία σε διάστημα 29 με 32 ωρών μετά την παρακέντηση με τη χρήση αντιδραστηρίου T-Cell Xtend.

Τα απομονωμένα κύτταρα ήταν επαρκή και λειτουργικά στην ανάλυση ELISPOT.

Σημείωση: Συνιστάται η χρήση 6 mL αίματος ανά δότη. Μια μείωση στον όγκο του αίματος ενδέχεται να επηρεάσει τις κυτταρικές ανακτήσεις.

### **Αναφορά σοβαρών περιστατικών**

Εάν συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό σε σχέση με αυτήν τη συσκευή, θα πρέπει να αναφερθεί στο κέντρο εξυπηρέτησης πελατών. Στα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, τα σοβαρά περιστατικά θα πρέπει επίσης να αναφέρονται στην αρμόδια αρχή (το κυβερνητικό τμήμα που είναι αρμόδιο για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα) στη χώρα σας. Ανατρέξτε στην ιστοσελίδα της κυβέρνησης για λεπτομέρειες σχετικά με τον τρόπο επικοινωνίας με την αρμόδια αρχή στη χώρα σας. Ως «σοβαρό περιστατικό» νοείται κάθε περιστατικό που άμεσα ή έμμεσα οδήγησε, θα μπορούσε να έχει οδηγήσει ή μπορεί να οδηγήσει σε:

- θάνατο ασθενούς, χρήστη ή άλλου ατόμου,
- προσωρινή ή μόνιμη σοβαρή επιδείνωση της κατάστασης της υγείας του ασθενούς, του χρήστη ή άλλου ατόμου,
- σοβαρή απειλή για τη δημόσια υγεία.

## Στοιχεία επικοινωνίας κέντρου εξυπηρέτησης πελατών

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











Για λήψεις υλικού υποστήριξης προϊόντων και περισσότερες τεχνικές πληροφορίες, επισκεφτείτε την ιστοσελίδα μας:  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

## Οδηγίες αντιμετώπισης προβλημάτων κατά τη συλλογή και το διαχωρισμό ΜΚΠΑ για ELISPOT

Πρόβλημα	Πιθανή αιτία	Πιθανή λύση
Χαμηλή απόδοση κυττάρων	Λευκοπενία	Προσθέστε ένα ακόμη σωληνάριο συλλογής αίματος
	Εσφαλμένη συλλογή αίματος	Τα σωληνάρια CPT και συλλογής αίματος που περιέχουν EDTA δεν είναι συμβατά με τα σωληνάρια Leucosep
	Το σωληνάριο συλλογής αίματος δεν βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C)	Περιμένετε έως ότου η θερμοκρασία του σωληναρίου συλλογής αίματος εξισωθεί με τη θερμοκρασία δωματίου
	Το αίμα δεν έχει αποθηκευτεί στην απαιτούμενη θερμοκρασία	Βεβαιωθείτε ότι το αίμα που έχει αποσταλεί είναι στους 18-25 °C ή στους 10-25 °C αν χρησιμοποιείται αντιδραστήριο T-Cell Xtend
	Χρήση όγκων ή αραιώσεων που διαφέρουν από αυτά που συνιστώνται	Εξασφαλίστε ότι ακολουθούνται οισωστές οδηγίες

<p>Επιμόλυνση ερυθρών αιμοσφαιρίων</p>	<p>Το αίμα δεν έχει αποθηκευτεί στην απαιτούμενη θερμοκρασία</p> <p>Το σωληνάριο συλλογής αίματος δεν βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C)</p> <p>Το αίμα δεν έχει αραιωθεί</p> <p>Αναστροφή του δείγματος του αίματος εντός του σωληναρίου Leucoser</p> <p>Εσφαλμένη φυγοκέντριση</p> <p>Διαχωρισμός δείγματος ατελής</p>	<p>Βεβαιωθείτε ότι το αίμα μεταφέρεται στους 18-25 °C ή στους 10-25 °C αν χρησιμοποιείται αντιδραστήριο T-Cell Xtend</p> <p>Περιμένετε έως ότου η θερμοκρασία του σωληναρίου συλλογής αίματος εξισωθεί με τη θερμοκρασία δωματίου</p> <p>Εξασφαλίστε ότι το αίμα έχει αραιωθεί σύμφωνα με τη διαδικασία</p> <p>Εξασφαλίστε ότι το σωληνάριο Leucoser παραμένει σε όρθια θέση πριν από τη φυγοκέντριση</p> <p>Εξασφαλίστε ότι ακολουθούνται οι οδηγίες φυγοκέντρισης</p> <p>Ελέγξτε ότι η συσκευή φυγοκέντρισης έχει δυνατότητα φυγοκέντρισης στους 18-25 °C</p> <p>Ελέγξτε εάν η πέδη είναι απενεργοποιημένη</p> <p>Αυξήστε το βήμα της φυγοκέντρισης κατά 10 λεπτά</p>
<p>Απουσία καθορισμένης ή διακριτής στοιβάδας μονοπύρηνων</p>	<p>Διαχωρισμός δείγματος ατελής</p> <p>Η συσκευή φυγοκέντρισης δεν είναι σωστά βαθμονομημένη</p> <p>Εσφαλμένη φυγοκέντριση</p> <p>Υπερλιπιδαιμικό δείγμα</p>	<p>Αυξήστε το βήμα της φυγοκέντρισης κατά 10 λεπτά</p> <p>Φροντίστε για τη βαθμονόμηση της συσκευής φυγοκέντρισης</p> <p>Εξασφαλίστε ότι ακολουθούνται οι οδηγίες φυγοκέντρισης</p> <p>Συλλέξτε δείγμα αίματος μετά από νηστεία</p>
<p>Μη έγκυρα αποτελέσματα:</p>	<p>Τα μη έγκυρα αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται σε ένα αριθμό προβλημάτων εσφαλμένου χειρισμού του δείγματος</p>	<p>Ανατρέξτε στις προηγούμενες ενότητες</p>

## Γλωσσάρι συμβόλων

	Ανάλωση έως / Ημερομηνία λήξης (Έτος-Μήνας-Ημέρα)
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός καταλόγου
	Προσοχή, βλέπετε οδηγίες χρήσης
	Κατασκευαστής
	Επαρκές για "ν" εξετάσεις
	Διαγνωστική συσκευή in vitro
	Όρια θερμοκρασίας / Να αποθηκεύεται μεταξύ
	Βλέπετε οδηγίες χρήσης
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την ΕΕ

Η επωνυμία T-Cell *Xtend* και το λογότυπο Oxford Immunotec είναι εμπορικά σήματα της Oxford Immunotec Limited

Η επωνυμία Leucosep είναι εμπορικό σήμα της Greiner Bio-One

Η επωνυμία AIM-V είναι εμπορικό σήμα της Life Technologies Corporation.


Η επωνυμία CPT είναι εμπορικό σήμα της Becton, Dickinson and Company.

Η χρήση του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* προστατεύεται από τα ακόλουθα διπλώματα ευρεσιτεχνίας και διπλώματα ευρεσιτεχνίας που βρίσκονται στο στάδιο της έγκρισης:

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

© Oxford Immunotec Limited, 2023. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

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

 Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την Ευρωπαϊκή Ένωση:  
Oxford Immunotec (Ireland)  
Unit 3d North Point House,  
North Point Business Park,  
New Mallow Road,  
Cork, T23 AT2P  
Republic of Ireland

Αριθμός αναθεώρησης	Ημερομηνία έκδοσης	Τροποποιήσεις
1 - 4		Λεπτομέρειες είναι διαθέσιμες κατόπιν αιτήματος από την Oxford Immunotec.
5	Λούνιος 2022	Αλλαγή διεύθυνσης κατασκευαστή. Προσθήκη ιστορικού αναθεωρήσεων. Προσθήκη οδηγιών για αναφορά σοβαρών περιστατικών, EC REP και Εισαγωγέας για την Ευρωπαϊκή Ένωση λεπτομέρειες
6	Οκτώβριος 2022	Διαγραφή Εισαγωγέα για λεπτομέρειες της Ευρωπαϊκής Ένωσης
7	Νοέμβριος 2023	Διαγραφή της φράσης «εταιρεία PerkinElmer» από το λογότυπο