

A teljes vérből nyert perifériás mononukleáris sejtek gyűjtéséhez és elkülönítéséhez

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

In vitro diagnosztikai használatra

A Kezelési útmutató a következő használatára vonatkozik:

Leucosep™-csövek (Katalógusszám: LTK.615)

Javasolt alkalmazás

A Leucosep-csővek a teljes periferiás vérből nyert mononukleáris sejtek (Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC) gyűjtésére és elkülönítésére szolgálnak. A csövek a PBMC-k teljes vértől való elválasztását egy poliszukróz alapú gradiens elválasztó oldat alkalmazásával leegyszerűsítik, mielőtt ezeket a sejteket ELISPOT teszteken alkalmaznák.

Bevezetés

Az ELISPOT eljárások olyan T-sejteket használnak, amelyek a teljes vérből elválasztott PBMC-kből származnak. A sejtek elválasztására szolgáló egyik módszer poliszukróz alapú gradiens elválasztó oldatot alkalmaz. Ez az eljárás számos olyan lépést tartalmaz, melyeket az optimális eredmények elérése érdekében óvatosan kell végrehajtani. A Leucosep-csővek használata csökkenti a lépések számát, megbízhatóbbá teszi az eljárást, és csökkenti az elválasztás végrehajtásához szükséges időt.

Az eljárás alapelve

A Leucosep-csőveket a teljes emberi vérből származó PBMC-k sűrűség-gradiens centrifugálással történő optimális elválasztásához fejlesztették ki. A Leucosep-csővek egy porózus gátat tartalmazó átlátszó polipropilén csőből állnak. Ez a biológiai szempontból inaktív gát kiváló minőségű polietilénből készül. A Leucosep-cső révén kiküszöbölhető a mintaanyagok poliszukróz alapú gradiens elválasztó oldatra történő idő-és munkaigényes felvitele. Az antikoagulánssal kezelt teljes vért médiummal vegyítjük, majd a Leucosep-csőbe töltjük. A porózus gátnak köszönhetően a vér nem keveredik össze az elválasztómédiummal. A centrifugálás során a PBMC sejtek eltérő sűrűségüknek köszönhetően elkülönülnek a nem kívánt eritrocitáktól, és az elválasztómédium feletti felületen gyűlnek össze. Az elválasztás végeztével a gát védi a periferiás vérből nyert mononukleáris sejtréteget az újrafertőződéstől ez utóbbinak az eltávolítása során.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

1. Kizárólag *in vitro* diagnosztikai használatra.
2. Csak szakképesített személyek használhatják; a tesztet végző személynek megfelelő képzésben kell részesülnie.
3. A vérmintákat potenciálisan veszélyes anyagnak kell tekinteni. A humán eredetű anyaggal elővigyázatosan kell bánni.
4. A teljes vérminták és a tesztkomponensek felhasználásának, tárolásának és ártalmatlanításának a biológiailag veszélyes anyagokra vonatkozó, megfelelő nemzeti irányelvekben és szabályozásokban meghatározott módon kell történnie.
5. Bármilyen eltérés az ajánlott pipettázási, mosási eljárásoktól, valamint centrifugálási idők és/vagy hőmérsékletek be nem tartása hatással lehet a periferiás vérből nyert mononukleáris sejtek izolálására és befolyásolhatja a további tesztek eredményeit.
6. Ne gyűjtse a vért a sejtpreparáló csövekbe (CPT™, Cell Preparation Tubes, Becton Dickinson) vagy az EDTA tartalmú vérgyűjtő-csővekbe, mivel e két csőtípus nem kompatibilis a Leucosep-csővekkel.
7. Ne hűtse és ne fagyassza le a teljes vérmintákat. A vérminták 18 és 25 °C közötti hőmérsékleten szállítandók és tárolandók a laboratóriumban, vagy 10 és 25 °C között, ha T-Cell Xtend® reagenssel kell a mintákat kezelni.
8. A vért nem szabad 8 óránál tovább tárolni, vagy 32 óránál tovább, ha később azt T-Cell Xtend reagenssel kezelik.
9. A vénás vérminták gyűjtésére csak egyszer használatos tárolóedényeket használjon
10. Ne használja a lejáratát túl.
11. A termék használata során steril módszereket alkalmazzon.
12. A Leucosep-csőveket ne tárolja közvetlen fénynek kitéve.
13. Ne használjon sérült Leucosep-csőveket vagy romlott poliszukróz alapú gradiens elválasztó oldatot, ezt az átlátszó oldat megszokottól eltérő sárga színe vagy szemcsés anyag megjelenése jelzi.
14. Ne használja fel újra a Leucosep-csőveket. Minden egyes cső egyszeri használatra szolgál.
15. A teljes vérminta gyűjtését illetően kövesse a vérmintagyűjtő csövek utasításait.

Szállított anyagok

Minden egyes doboz tartalma:

50 db poliszukróz alapú gradiens elválasztó oldattal töltött Leucosep-cső.

Kezelési útmutatót és biztonsági adatlapot tartalmazó CD.

Tárolás és stabilitás

A dobozon feltüntetett lejárat dátumig 4-30 °C-on tárolandó. A megbontott termék szobahőmérsékleten (18 és 25 °C között) tárolandó, a külső zacskó felbontását követő 12 héten belül, vagy a dobozon feltüntetett lejárat dátumig használható fel attól függően, hogy melyik van korábban.

Szükséges, de nem szállított anyagok és eszközök

1. Heparinizált vérvételi csövek.
2. AIM-V® és RPMI sejttenyésztő médiumok.
3. 15 mL-es centrifugacsövek.
4. Centrifuga a PBMC sejtek frakcionálásához, legalább 1000 RCF (g) teljesítménnyel és ami képes a mintákat szobahőmérsékleten (18 és 25 °C között) tartani.
5. 2-es biológiai biztonsági szintű (BL2) elszívófülke (ajánlott).
6. Pipetták és steril pipettahegyek.
7. ELISPOT-készlet.
8. T-Cell *Xtend* reagensre lehet szükség, ha 8 óránál régebbi minták kerülnek felhasználásra.

Eljárás

Megjegyzés: A következő lépéseket a helyes laboratóriumi gyakorlat elvei alapján kell végrehajtani:

1. Győződjön meg arról, hogy a szükséges számú Leucosep-cső a használat előtt szobahőmérsékleten (18-25 °C között) van.
2. Ha a poliszukróz alapú gradiens elválasztó oldat a porózus gát (fritt) felett is látható, a Leucosep csöveket egy percig 350 g-n centrifugálja, hogy a poliszukróz alapú gradiens elkülönítő oldat a fritt alá kerüljön.
3. Fordítsa meg a teljes vérmintát tartalmazó csövet, majd egy 15 mL-es centrifugacsőben hígítsa 5 rész vér és 3 rész AIM-V vagy RPMI sejttenyésztő médium arányban. Az összekeveréshez néhányszor fordítsa meg a centrifuga csövet.
4. Töltse a hígított vért közvetlenül a Leucosep-csőbe, és 18-25 °C-on, 1000 g sebességen, fékezés nélkül centrifugálja 10 percig.
5. Szívja le a zavaros PBMC réteget, és egy 15 mL-es centrifugacsőben egészítse ki ~10 mL AIM V-vel vagy RPMI-vel. Az összekeveréshez fordítsa meg a centrifugacsövet.
6. Centrifugálja 600 g sebességen 7 percig. Dobja el a felülúszót.
7. Szuszpendálja fel újra a sejtpelletet AIM V-vel vagy RPMI-vel, egészítse ki ~10 mL-re AIM-V-vel vagy RPMI-vel, és centrifugálja le 350 g-n további 7 percig.
8. Dobja el a felülúszót, és szuszpendálja fel a sejtpelletet az ELISPOT próbához szükséges térfogatú AIM-V-vel (**nem** RPMI-vel).
9. Ha sejtek egy ELISPOT teszten végzett antigén stimulációhoz szükségesek, akkor annak megfelelően hígítsa a sejteket AIM-V-vel (**nem** RPMI-vel).

Korlátozások

1. A többi elválasztási módszerhez hasonlóan a Leucosep-csövek is megváltoztathatják egyes PBMC-alcsoportok (például a T és B-sejtek) arányát a nem szétválasztott, teljes vérben lévő alcsoportokhoz képest. Ez az eltérés normál esetben viszonylag jelentéktelen.

Minőségellenőrzés

Az egyes laboratóriumok minőségellenőrzési tevékenységének részeként a sejtszámlálási módszereket úgy kell megtervezni és jóváhagyni, hogy elegendő PBMC álljon rendelkezésre az adott vizsgálati rendszerhez. Ezenkívül a minőségellenőrzési tevékenységek során pozitív és negatív kontrollokat kell alkalmazni, amelyek azért kerültek kifejlesztésre, hogy a vonatkozó vizsgálati rendszeren belül biztosítsák a T-sejtek várható teljesítményét.

Teljesítményjellemzők

Friss vér

15 személytől 6 mL vért vettek le. Az egyes személyektől származó mintákat a vérvételt követő 8 órán belül feldolgozták. A mintákat poliszukróz alapú elválasztó médiummal töltött Leucosep-csőveket alkalmazva dolgozták fel. Az izolált sejtek életképesek és funkcionálisak voltak az ELISPOT próba során.

A T-Cell Xtend reagens alkalmazásával tárolt vér

205 személytől vettek vért, és ezeket a vérmintákat használták a sejtviasszanyerés meghatározására poliszukróz alapú elválasztó médiummal töltött Leucosep-csőveket használva. Személyenként 6 mL vért vettek le, és a mintákat a vérvételt követő 29-32 órában feldolgozták T-Cell Xtend reagenst alkalmazva.

Az izolált sejtek életképesek és funkcionálisak voltak az ELISPOT teszt során.

Megjegyzendő, hogy személyenként 6 mL vér levétele ajánlott. A vér térfogatának csökkenése befolyásolhatja a sejtek visszanyerését.

Súlyos események jelentése

Ha az eszköz kapcsán súlyos esemény következett be, ezt jelenteni kell az Ügyfélszolgálatnak. Az Európai Unió tagállamaiban továbbá országa illetékes hatóságának (az in vitro orvosi diagnosztikai eszközökért felelős kormányhivatalnak) is jelenteni kell a súlyos eseményeket. Az illetékes hatósággal való kapcsolatfelvétel részleteit illetően kérjük, tekintse meg országa kormányzati weboldalát. A „súlyos esemény” bármely olyan eseményt jelent, amely közvetlenül vagy közvetve a következőket okozta, okozhatta vagy okozhatja:

- a beteg, a felhasználó vagy más személy halála;
- a beteg, a felhasználó vagy más személy egészségi állapotának súlyos romlása ideiglenes vagy végleges jelleggel;
- súlyos közegészségügyi veszély.

Ügyfélszolgálat elérhetőségei

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Egyesült Királyság
Tel.: +44 (0) 1235 442780
E-mail: info@oxfordimmunotec.com

Letölthető terméktámogatási anyagokért és további technikai információkért kérjük, keresse fel weboldalunkat:











www.oxfordimmunotec.com

Hibaelhárítási útmutató a PBMC összegyűjtéséhez és ELISPOT teszthez történő elválasztásához

Probléma	Lehetséges ok	Lehetséges megoldás
Alacsony sejthozam	<p>Leucopenia</p> <p>Helytelen vérvétel</p> <p>A vérvételi cső nem szobahőmérsékletű (18-25 °C)</p> <p>A vért nem a megfelelő hőmérsékleten tárolták</p> <p>Az ajánlottól eltérő térfogatok vagy hígítások használata</p>	<p>Adjon hozzá egy további vérvételi csövet</p> <p>A CPT és az EDTA-t tartalmazó vérvételi csövek nem kompatibilisek a Leucosep csövekkel</p> <p>Hagyja, hogy a vérvételi csövek szobahőmérsékletre melegedjenek</p> <p>Győződjön meg arról, hogy a vérszállítás 18-25 °C-on történt vagy 10-25 °C-on, ha T-Cell Xtend reagenst használtak</p> <p>Győződjön meg róla, hogy a megfelelő utasításokat betartották</p>
Vörösvértest szennyezés	<p>A vért nem a megfelelő hőmérsékleten tárolták</p> <p>A vérvételi cső nem szobahőmérsékletű (18-25 °C) A vért nem hígították</p> <p>A vérminta megfordítása a Leucosep-csőben</p> <p>Helytelen centrifugálás</p> <p>A minta elválasztása nem teljes</p>	<p>Bizonyosodjon meg arról, hogy a vérszállítás 18-25 °C-on történt vagy 10-25 °C-on, ha a T-Cell Xtend reagenst használtak</p> <p>Hagyja, hogy a vérvételi csövek szobahőmérsékletre melegedjenek</p> <p>Gondoskodjon a vér megfelelő eljárás szerinti hígításáról</p> <p>Győződjön meg arról, hogy a Leucosep-cső a centrifugálás előtt függőlegesen marad</p> <p>Győződjön meg arról, hogy a centrifugálási utasításokat betartották</p> <p>Ellenőrizze, hogy a centrifuga 18-25 °C közé hűthető</p> <p>Ellenőrizze, hogy a centrifugafék ki van kapcsolva</p> <p>Növelje a centrifugálási lépést 10 percre.</p>

Probléma	Lehetséges ok	Lehetséges megoldás
Nincs határozott vagy különálló mononukleáris réteg	A minta elválasztása nem teljes	Növelje a centrifugálási lépést 10 percre.
	A centrifuga nem megfelelően lett kalibrálva	Kalibrálja a centrifugát
	Helytelen centrifugálás	Győződjön meg róla, hogy a centrifugálási utasításokat betartották
	Hiperlipémiás minta	Éhgyomri vérmintát gyűjtsön
Érvénytelen eredmények	Az érvénytelen eredményeket több hibás mintakezelési probléma okozhatja	Lásd a fenti fejezeteket

A szimbólumok jegyzéke

	Felhasználható/Lejárat dátum (Év-Hónap-Nap)
	Tételszám
	Katalógusszám
	Figyelem, olvassa el a használati utasítást
	Gyártó
	"n" vizsgálatához elegendő
	<i>In vitro</i> diagnosztikai eszköz
	Hőmérsékletkorlátozás/Tárolás
	Olvassa el a használati utasítást
	EU meghatalmazott képviselő

A T-Cell *Xtend* és az Oxford Immunotec logó az Oxford Immunotec Limited védjegye.

A Leucosep a Greiner Bio-One védjegye.

Az AIM-V a Life Technologies Corporation védjegye.

A CPT a Becton, Dickinson and Company védjegye.

A T-Cell *Xtend* reagens alkalmazását a következő szabadalmak és függőben lévő szabadalmak védik; EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2022, Oxford Immunotec Limited. Minden jog fenntartva.

■ Gyártó:

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

 EU meghatalmazott képviselő:

Oxford Immunotec (Írország)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Ír Köztársaság

Felülvizsgálat száma	Kiadás időpontja	Módosítások
1 - 4	A részletek kérésre hozzáférhetők az Oxford Immunotec vállalatnál.	
5	2022. Június	Gyártó címének változása. A felülvizsgálati előzmények hozzáadása. A súlyos események jelentését illető utasítások hozzáadása, EC REP és az Európai Unió importőr adatait.
6	2022. október	Törölje az Európai Unió importőr.



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



www.oxfordimmunotec.com