

Voor gebruik bij het verzamelen en scheiden van perifere mononucleaire cellen uit volbloed

## BIJSLUITER

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik

In deze bijsluiter wordt het gebruik behandeld van:

Leucosep™-buisjes (Catalogusnummer: LTK.615)

## Bedoeld gebruik

Leucosep-buisjes zijn bestemd voor gebruik bij het verzamelen en scheiden van perifere bloed mononucleaire cellen (PBMC) uit volbloed. De buisjes vergemakkelijken de scheiding van PBMC's uit volbloed onder toepassing van een op polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing vóór het gebruik van deze cellen in ELISPOT-assays.

## Inleiding

ELISPOT-technieken gebruiken T-cellen in PBMC's die uit volbloed zijn afgescheiden. Een scheidingsmethode van deze cellen vereist het gebruik van een op polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing. Deze procedure omvat een aantal stappen die zorgvuldig uitgevoerd moeten worden om optimale resultaten te garanderen. Het gebruik van Leucosep-buisjes vermindert het aantal stappen, maakt de procedure robuuster en vermindert de tijd die nodig is om de scheidingsprocedure uit te voeren.

## Principe van methode

Leucosep-buisjes zijn ontwikkeld om optimale scheiding van PBMC's uit menselijk bloed te bekomen door middel van dichtheidsgradientcentrifugatie. Leucosep-buisjes bevatten een poreuze barrière in een transparant polypropyleenbuisje. Deze biologisch inerte barrière bestaat uit hoogwaardig polyethyleen. Het Leucosep-buisje elimineert het tijdrovend en moeizame aanbrenge van een laag monstermateriaal boven op een polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing. Antige-coaguleerd volbloed wordt gemengd met cultuurmedia en wordt vervolgens in het Leucosep-buisje gegoten. De poreuze barrière voorkomt het vermengen van het bloed met het scheidingsmedium. Gedurende het centrifugeren worden PBMC's door hun verschil in dichtheid gescheiden van ongewenste erythrocyten en verzameld in de interface boven het scheidingsmedium. Wanneer de scheiding compleet is, voorkomt de barrière de hercontaminatie van de PBMC-laag tijdens het verwijderen ervan.

## Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

1. Alleen voor *in vitro* diagnostisch gebruik.
2. Alleen voor professioneel gebruik. Gebruikers moeten opgeleid zijn in deze procedure.
3. Bloedmonsters dienen als potentieel gevaarlijk te worden beschouwd. Het hanteren van materiaal van menselijke oorsprong moet met voorzichtigheid gebeuren.
4. Het hanteren van volbloedmonsters en analysecomponenten, tijdens hun gebruik, opslag en verwijdering, moet gebeuren in overeenstemming met de procedures die zijn omschreven in de relevante nationale veiligheidrichtlijnen of -voorschriften met betrekking tot biologische gevaren.
5. Eender welke afwijking van de aanbevolen procedures voor pipettering, wastechnieken, centrifugeringstijden en/of temperaturen kunnen de zuiverheid van de PBMC-isolaties aantasten en de daaropvolgende testresultaten beïnvloeden.
6. Verzamel geen bloed in cel voorbereidingsbuisjes (CPT™, Becton Dickinson) of EDTA-bloedafnamebuisjes, omdat deze niet compatibel zijn met Leucosep-buisjes.
7. Volbloedmonsters niet koelen of bevriezen. Bewaar en vervoer de bloedmonsters naar het laboratorium bij temperaturen tussen 18 en 25 °C of 10 en 25 °C als de monsters met het TCell Xtena®-reagens moeten worden behandeld.
8. Bloed mag niet langer dan 8 uur of 32 uur worden bewaard als het later met het T-Cell Xtend-reagens wordt behandeld.
9. Gebruik alleen recipiënten voor eenmalig gebruik voor het verzamelen van veneuze bloedmonsters.
10. Niet gebruiken na de vervaldatum.
11. Gebruik aseptische technieken bij het gebruik van dit product.
12. Leucosep-buisjes niet in direct licht bewaren.
13. Niet gebruiken als de Leucosep-buisjes beschadigd zijn of als de op polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing is verslechterd, zoals aangegeven door het verschijnen van een duidelijke gele kleur of deeltjes in de heldere oplossing.
14. Leucosep-buisjes niet hergebruiken. Elk buisje is bedoeld voor eenmalig gebruik.
15. Volg de instructies voor de afname van bloedmonsters in de buisjes voor de afname van volbloed.

## Geleverde materialen

Elke doos bevat:

50 Leucosep buisjes-voorgevuld met een op polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing.  
CD met de bijsluiters en MSDS.

## Bewaring en stabiliteit

Ongeopend bewaren bij 4 tot 30 °C tot de vervaldatum op de doos is bereikt. Bewaar het geopende product bij kamertemperatuur (18 tot 25 °C) en gebruiken binnen de 12 weken na het openen van de buitenzak of vóór de vervaldatum op de doos, naargelang wat het vroegste is.

## Vereiste maar niet voorziene apparatuur en materialen

1. Geheparineerde bloedafnamebuisjes.
2. AIM-V® en RPMI celcultuurmedia.
3. Centrifugebuisjes van 15 mL.
4. Een centrifuge voor de fractionering van PBMC's met een capaciteit van ten minste 1000 RCF (g) en in staat om de monsters bij kamertemperatuur (18 tot 25 °C) te houden.
5. Biosafety Level 2 (BL 2) kast (aanbevolen).
6. Pipetten en steriele pipettippen.
7. ELISPOT kit.
8. Wanneer monsters worden gebruikt die ouder zijn dan 8 uur, kan T-Cell *Xtend*-reagens nodig zijn.

## Procedure

Opmerking: De volgende stappen dienen te worden uitgevoerd volgens de principes van Goede laboratoriumpraktijk:

1. Zorg ervoor dat het benodigde aantal leucosep-buisjes bij kamertemperatuur (18 tot 25 °C) zijn voor gebruik.
2. Als de op polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing zich boven de poreuze barrière (frit) heeft verzameld, centrifugeer de Leucosep buisjes bij 350 x g gedurende één minuut om de polysucrosegebaseerde gradiënt-scheidingsoplossing onder de frit te verplaatsen.
3. Keer het volbloedmonster om en verdun het vervolgens in een verhouding van 5 delen bloed voor 3 delen AIM-V of RPMI celweekmedium in een centrifugebuisje van 15 mL. Keer het centrifugebuisje meerdere malen om, om te mengen.
4. Giet het verdunde bloed rechtstreeks in het Leucosep-buisje en centrifugeer bij 1000 x g gedurende 10 minuten bij 18 tot 25 °C zonder rem.
5. Aspireer de wolkige PBMC-laag en aanvullen tot ~10 mL met AIM-V of RPMI in een centrifugebuisje van 15 mL. Keer het centrifugebuisje om, om te mengen.
6. Centrifugeer bij 600 x g gedurende 7 minuten. Verwijder de supernatant.
7. Resuspendeer de celpellet met AIM-V of RPMI, aanvullen tot 10 mL met AIM-V of RPMI en nog eens gedurende 7 minuten centrifugereren bij 350 x g.
8. Verwijder de supernatant en resuspendeer de celpellet in het volume van AIM-V (niet RPMI) dat vereist is voor de ELISPOT-assay.
9. Als cellen nodig zijn voor antigeenstimulatie in een ELISPOT-assay, verdun de cellen dienovereenkomstig met AIM-V (niet RPMI).

## Beperkingen

1. Zoals bij andere scheidingsmethoden kunnen Leucosep-buisjes het aandeel van sommige PBMC-subsets (bv. T- en B-cellen) veranderen ten opzichte van die in niet gescheiden volbloed. Deze wijziging is in normale gevallen naar verwachting relatief onbelangrijk.

## Kwaliteitscontrole

Als onderdeel van een kwaliteitscontroleactiviteit van een individueel laboratorium, dienen celtelmethoden te worden ontworpen en gevalideerd om ervoor te zorgen dat voldoende PBMC's zijn verkregen voor het relevante testsysteem. Daarnaast dienen kwaliteitscontroleactiviteiten gebruik te

maken van positieve en negatieve controles die zijn ontwikkeld om de verwachte prestatie van de T-cellen in het betreffende testsysteem te waarborgen.

## **Prestatiekenmerken**

### Vers bloed

6 mL bloed werd van 15 donoren verkregen. De monsters van elke donor werden verwerkt binnen de 8 uur na de venepunctie. De monsters werden verwerkt met behulp van Leucosep-buisjes gevuld met polysucrosegebaseerde scheidingsmedia. Geïsoleerde cellen waren levensvatbaar en functioneel in de ELISPOT-assay.

### Bewaard bloed met gebruik van T-Cell *Xtend* Reagens

Bloedmonsters van 205 donoren werden verkregen en gebruikt voor het analyseren van celherwinningen door gebruik te maken van Leucosep-buisjes gevuld met polysucrosegebaseerde scheidingsmedia. Per donor werd 6 mL bloed verzameld en het bloed werd verwerkt tussen 29 à 32 uur na de venepunctie met behulp van T-Cell *Xtend*-reagens.

Geïsoleerde cellen waren levensvatbaar en functioneel in de ELISPOT-assay.

Opmerking, het wordt aanbevolen om 6 mL bloed per donor te gebruiken. Een afname in het bloedvolume kan de celherwinningen beïnvloeden.

## **Melden van ernstige incidenten**

Als zich een ernstig incident met betrekking tot dit hulpmiddel heeft voorgedaan, moet dit aan de Klantenservice worden gemeld. In de lidstaten van de Europese Unie moeten ernstige incidenten ook gemeld worden aan de bevoegde autoriteit (de overheidsdienst die verantwoordelijk is voor medische hulpmiddelen voor in-vitrodiagnostiek) in uw land. Op de website van uw overheid vindt u nadere gegevens over hoe u contact kunt opnemen met uw bevoegde autoriteit. Een "ernstig incident" is elk incident dat direct of indirect heeft geleid, zou kunnen hebben geleid of zou kunnen leiden tot:

- het overlijden van een patiënt, een gebruiker of een andere persoon;
- de tijdelijke of blijvende ernstige verslechtering van de gezondheidstoestand van een patiënt, een gebruiker of een andere persoon;
- een ernstige bedreiging van de volksgezondheid.

## **Contactinformatie Klantenservice**

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

Voor downloads van productondersteuning en verdere technische informatie kunt u terecht op onze website:











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

## Probleemoplossing bij het verzamelen en scheiden van PBMC's voor ELISPOT

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing
Lage celopbrengst	<p>Leucopenie</p> <p>Incorrecte bloedafname</p> <p>Het bloedafnamebuisje is niet bij kamertemperatuur (18 tot 25 °C)</p> <p>De bewaring van het bloed gebeurt niet aan de vereiste temperatuur</p> <p>Gebruik van volumes of verdunningen anders dan aanbevolen</p>	<p>Voeg een extra bloedafnamebuisje toe</p> <p>CPT- en bloedafnamebuisjes die EDTA bevatten, zijn niet compatibel met Leucosep-buisjes</p> <p>Laat het bloedafnamebuisje op kamertemperatuur komen</p> <p>Zorg ervoor dat de verzending van het bloed gebeurt bij 18 tot 25 °C of 10 tot 25 °C als het TCell <i>Xtend</i>-reagens wordt gebruikt</p> <p>Zorg ervoor dat de juiste instructies worden gevolgd</p>
Rode bloedcellen contaminatie	<p>De bewaring van het bloed gebeurt niet aan de vereiste temperatuur</p> <p>Het bloedafnamebuisje is niet bij kamertemperatuur (18 tot 25 °C)</p> <p>Het bloed is niet verdund</p> <p>Inversie van het bloedmonster binnen het Leucosep-buisje</p> <p>Incorrecte centrifugatie</p> <p>Onvolledige scheiding van het monster</p>	<p>Zorg ervoor dat de verzending van het bloed gebeurt bij 18 tot 25 °C of 10 tot 25 °C als het TCell <i>Xtend</i>-reagens wordt gebruikt</p> <p>Laat het bloedafnamebuisje op kamertemperatuur komen</p> <p>Zorg ervoor dat het bloed volgens de procedure verdund wordt</p> <p>Zorg ervoor dat het Leucosep-buisje rechtop blijft vóór het centrifugeren</p> <p>Zorg ervoor dat de centrifugatie instructies worden gevolgd</p> <p>Controleer of de centrifuge in staat is om te koelen tot 18 tot 25 °C</p> <p>Controleer of de centrifugerem is uitgeschakeld</p> <p>Verleng de centrifugatiestap met 10 minuten.</p>

Probleem	Mogelijke oorzaak	Mogelijke oplossing
Geen gedefinieerde of onderscheiden mononucleaire laag	<p>Onvolledige scheiding van het monster</p> <p>De centrifuge is niet correct gekalibreerd</p> <p>Incorrecte centrifugatie</p> <p>Hyperlipemisch monster</p>	<p>Verleng de centrifugatiestap met 10 minuten.</p> <p>Laat de centrifuge kalibreren</p> <p>Zorg ervoor dat de centrifugatie instructies worden gevolgd</p> <p>Verzamel het bloedmonster na te hebben gevast</p>
Ongeldige resultaten	Ongeldige resultaten kunnen worden veroorzaakt door een aantal onjuiste behandelingen van het monster	Raadpleeg de bovenstaande punten

### Woordenlijst van symbolen

	Te gebruiken voor/Vervaldatum (Jaar-Maand-Dag)
	Lotnummer
	Catalogusnummer
	Opgelet, zie de gebruiksaanwijzing
	Fabrikant
	Volgende voor "n" tests
	<i>In vitro</i> diagnostisch hulpmiddel
	Temperatuurbepending/Bewaren tussen
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	EU-gemachtigde vertegenwoordiger

T-Cell *Xtend* en het Oxford Immunotec logo zijn handelsmerken van Oxford Immunotec Limited.  
 Leucosep is een handelsmerk van Greiner Bio-One  
 AIM-V is een handelsmerk van the Life Technologies Corporation..  
 CPT is een handelsmerk van Becton Dickinson and Company.

Het gebruik van het T-Cell *Xtend*-reagens wordt beschermd door de volgende octrooien en octrooien in aanvraag; EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2022, Oxford Immunotec Limited. Alle rechten voorbehouden.

■ Fabrikant:  
Oxford Immunotec Ltd.  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon  
Oxfordshire, OX14 4SE, VK  
+44(0)1235 442780  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

 EU-gemachtigde vertegenwoordiger:  
Oxford Immunotec (Ierland)  
Unit 3d North Point House,  
North Point Business Park,  
New Mallow Road,  
Cork, T23 AT2P  
Republiek Ierland

Revisienummer	Datum van afgifte	Wijzigingen
1 - 4		Details op aanvraag verkrijgbaar bij Oxford Immunotec.
5	Juni 2022	Wijziging van adres van fabrikant. Toevoeging van revisiegeschiedenis. Toevoeging van instructies om ernstige incidenten te melden, EC REP en Importeur in de Europese Unie.
6	oktober 2022	verwijderen Importeur in de Europese Unie