

Til bruk i innsamling og separasjon av perifere mononukleære celler fra fullblod

PAKNINGSVEDLEGG

For *in vitro*-diagnostisk bruk

Dette pakningsvedlegget omfatter bruk av:

Leucosep™-rør (katalognummer: LTK.615)

Tilsiktet bruk

Leucosep-rør er beregnet på innsamling og separasjon av perifere mononukleære blodceller (PBMC = peripheral blood mononuclear cell) fra helblod. Rørene forenkler separasjonen av PBMC-er fra helblod ved hjelp av en polysukrose-basert gradientseparasjonsløsning før disse cellene brukes i ELISPOT-tester.

Introduksjon

ELISPOT-metoden anvender T-celler i PBMC-er som er blitt separert fra helblod. En måte å separere disse cellene på er å bruke en polysukrose-basert gradientseparasjonsløsning. Denne fremgangsmåten består av en rekke trinn som må utføres nøyaktig for å sikre optimale resultater. Det å bruke Leucosep-rør reduserer antall trinn, gjør prosedyren mer robust og forkorter tiden det tar å utføre separasjonsprosedyren.

Metodens prinsipper

Leucosep-rør er utviklet for å oppnå optimal PBMC-separasjon av humant helblod ved hjelp av densitetsgradiententrifugering. Leucosep-rør har innebygd en porøs barriere i et gjennomsiktig polypropylenrør. Denne biologisk nøytrale barrieren består av polyetylen av høy kvalitetsgrad. Leucosep-røret eliminerer den tidkrevende og møysommelige leggingen av prøvematerialet lagvis over en polysukrose-basert gradientseparasjonsløsning. Antikoagulert helblod blandes med kulturmediet og fylles i Leucosep-røret. Den porøse barrieren forhindrer at blodet blandes med separasjonsmediet. Under sentrifugeringen skilles PBMC-ene fra uønskede erytrocytter på grunn av deres ulike tetthet, og samles i grensesjiktet over separasjonsmediet. Når separasjonen er fullført, forhindrer barrieren at PBMC-laget rekontamineres ved fjerning.

Advarsler og forholdsregler

1. Kun for *in vitro*-diagnostisk bruk.
2. Kun for profesjonell bruk; utøvere må være opplært i denne prosedyren.
3. Blodprøver må anses å være potensielt farlige. Vis omtanke når materiale av human opprinnelse håndteres.
4. Helblodprøver og testkomponenter må, under bruk, lagring og fjerning, håndteres i henhold til prosedyrer angitt i gjeldende sikkerhetsretningslinjer eller -forskrifter vedrørende biologisk risikomateriale.
5. Alle avvik fra anbefalte prosedyrer for pipettering, vaskemetoder, sentrifugeringstid og/eller temperaturer kan endre renheten av de isolerte PBMC-ene og påvirke de påfølgende testresultatene.
6. Blod må ikke samles i celleforberedelsesrør (CPT™, Becton Dickinson) eller EDTA-blodprøvetakingsrør, da de er inkompatible med Leucosep-rør.
7. Prøver av helblod må ikke nedkjøles eller fryses. Blodprøvene må lagres og transporteres til laboratoriet ved temperaturer mellom 18 og 25 °C, eller 10–25 °C hvis prøvene skal behandles med T-Cell *Xtend*®-reagensen.
8. Blod må ikke oppbevares mer enn 8 timer, eller over 32 timer hvis det senere skal behandles med T-Cell *Xtend*-reagensen.
9. Det må bare brukes engangsbeholdere for venøs blodprøvetaking.
10. Må ikke brukes etter utløpsdatoen.
11. Følg aseptisk teknikk ved bruk av dette produktet.
12. Leucosep-rør må ikke oppbevares i direkte lys.
13. Ikke bruk hvis Leucosep-rørene er skadet eller hvis den polysukrose-baserte gradientseparasjonsløsning er forringet, noe som indikeres av en tydelig gul farge eller partikkelmasse i den klare oppløsningen.
14. Ikke bruk Leucosep-rør på nytt. Hvert rør er designet til éngangsbruk.
15. Følg instruksjonene for innsamling av blodprøver for innsamling av fullblod.

Materialer levert

Hver eske inneholder:

50 Leucosep-rør ferdigfylt med en polysukrose-basert gradientseparasjonsløsning.

CD med pakningsvedlegg og sikkerhetsdataark.

Lagring og stabilitet

Oppbevares ved 4–30 °C uåpnet til utløpsdatoen angitt på esken. Oppbevar det åpnete produktet ved romtemperatur (18–25 °C) og bruk det innen datoen som inntreffer først av 12 uker etter åpning av ytteremballasjen eller utløpsdatoen på esken.

Nødvendig utstyr og materiell som ikke følger med

1. Hepariniserte blodprøvetakingsrør.
2. AIM-V®- og RPMI-cellekulturmedia.
3. 15 mL sentrifugerør.
4. En sentrifuge for fraksjonering av PBMC-er med kapasitet på minst 1000 RFC (g) og evne til å holde prøvene ved romtemperatur (18–25 °C).
5. Skap med biosikkerhetsnivå 2 (BL 2) (anbefalt).
6. Pipetter og sterile pipettespisser.
7. ELISPOT-sett.
8. T-Cell *Xtend*-reagens kan være nødvendig hvis det brukes prøver eldre enn 8 timer.

Prosedyre

Merk: Følgende trinn må utføres etter prinsippene for god laboratoriepraksis:

1. Sørg for at et nødvendig antall Leucosep-rør er ved romtemperatur (18–25 °C) før bruk.
2. Hvis den polysukrose-baserte gradientseparasjonsløsningen er oppsamlet over den porøse barrieren (fritten), må Leucosep-rørene sentrifuges ved 350 x g i ett minutt for å flytte den polysukrose-baserte gradientseparasjonsløsningen under fritten.
3. Vend helblodprøven og fortynn den i forholdet 5 deler blod til 3 deler AIM-V- eller RPMI-cellekulturmedium i et 15 mL sentrifugerør. Vend sentrifugerøret flere ganger for å blande.
4. Hell det fortynnede blodet direkte inn i Leucosep-røret og sentrifuger ved 1000 x g i 10 minutter ved 18–25 °C uten brems.
5. Aspirer det grumsete PBMC-laget og tilbered opptil ~10 mL AIM-V eller RPMI i et 15 mL sentrifugerør. Vend sentrifugerøret for å blande.
6. Sentrifuger ved 600 x g i 7 minutter. Kast supernatanten.
7. Løs opp celledelleten igjen med AIM-V eller RPMI, tilbered opptil ~10 mL AIM-V eller RPMI, og sentrifuger ved 350 x g i 7 minutter til.
8. Kast supernatanten og løs opp celledelleten igjen i AIM-V-volumet (**ikke RPMI**) slik det kreves av ELISPOT-testen.
9. Hvis det er nødvendig med celler for antigen stimulering i en ELISPOT-test, fortynnes cellene deretter med AIM-V (**ikke RPMI**).

Begrensninger

1. I likhet med andre separasjonsmetoder, kan Leucosep-rør endre proporsjonen av enkelte PBMC-fraksjoner (for eksempel T- og B-celler) i forhold til helblod som ikke er separert. Det antas at denne endringen er relativt ubetydelig i normale tilfeller.

Kvalitetskontroll

Metoder for celledelling må, i henhold til det enkelte laboratoriums retningslinjer for utførelse av kvalitetskontroll, utformes og valideres for å sikre at det skaffes et tilstrekkelig antall PBMC-er for det relevante testsystemet. I tillegg må kvalitetskontrollen utøve positive og negative kontroller som er laget for å sikre T-cellenes forventede ytelse i det relevante testsystemet.

Ytelsesegenskaper

Friskt blod

Det ble skaffet 6 mL blod fra 15 donorer. Prøver fra hver donor ble behandlet innen 8 timer fra venepunktur. Prøvene ble behandlet ved å bruke Leucosep-rør fylt med polysukrose-baserte separasjonsmedia. Isolerte celler var levedyktige og funksjonelle i ELISPOT-testen.

Blod lagret ved hjelp av T-Cell *Xtend*-reagensen

Det ble skaffet blodprøver fra 205 donorer som ble brukt for å undersøke restitusjon av celler ved å bruke Leucosep-rør fylt med polysukrose-baserte separasjonsmedia. Det ble innhentet 6 mL blod per donor, og blodet ble behandlet i 29–32 timer etter venepunktur ved hjelp av T-Cell *Xtend*-reagensen.

Isolerte celler var levedyktige og funksjonelle i ELISPOT-testen.

Merk: Vær oppmerksom på at det anbefales bruk av 6 mL blod per donor. Lavere blodvolum kan påvirke cellenes restitusjon.

Rapportering av alvorlige hendelser

Dersom en alvorlig hendelse har oppstått i forbindelse med denne enheten, skal den rapporteres til kundeservice. I EU-medlemsland skal også alvorlige hendelser meldes til de kompetente myndighetene (den statlige avdelingen som er ansvarlig for in vitro-diagnostiske medisinske enheter) i ditt land. Se nettstedet til din regjering for informasjon om hvordan du skal få kontakt med de gjeldende myndighetene. En «alvorlig hendelse» betyr en hvilken som helst hendelse som direkte eller indirekte kan ha ført til eller kan føre til:

- dødsfall til en pasient, bruker eller annen person,
- midlertidig eller permanent alvorlig svekkelse av en pasients, brukers eller annen persons helsetilstand,
- en alvorlig trussel for folkehelsen.

Kontaktinformasjon for kundeservice











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

For produktnedlastinger og annen teknisk informasjon, går til nettstedet vårt:
www.oxfordimmunotec.com.

Veiledning i å feilsøke innsamling og separasjon av PBMC-er for ELISPOT

Problem	Mulig årsak	Mulig løsning
Lav celleytelse	<p>Leukopeni</p> <p>Feil blodprøvetaking</p> <p>Røret for blodprøvetaking er ikke ved normal romtemperatur (18–25 °C)</p> <p>Blodlagring er ikke ved nødvendig temperatur</p> <p>Bruk av andre volumer eller fortynninger enn anbefalt</p>	<p>Legg til et ekstra blodprøvetakingsrør</p> <p>CPT-rør og blodprøvetakingsrør som inneholder EDTA er ikke kompatible med Leucosep-rør</p> <p>La røret for blodprøvetaking oppnå romtemperatur</p> <p>Påse at blodforsendelser holder 18–25 °C, eller 10–25 °C hvis TCell <i>Xtend</i>-reagensen brukes</p> <p>Påse at de relevante anvisningene følges</p>
Kontaminasjon av røde blodceller	<p>Blodlagring er ikke ved nødvendig temperatur</p> <p>Røret for blodprøvetaking er ikke ved normal romtemperatur (18–25 °C) Blod er ikke fortynnet</p> <p>Inversjon av blodprøve inne i Leucosep-rør</p> <p>Feil sentrifugering</p> <p>Prøveseparasjon ikke fullført</p>	<p>Sørg for at blodet transporteres ved 18–25 °C, eller 10–25 °C hvis TCell <i>Xtend</i>-reagensen brukes</p> <p>La røret for blodprøvetaking oppnå romtemperatur</p> <p>Sørg for at blodet fortynnes i henhold til prosedyren</p> <p>Sørg for at Leucosep-rør holdes oppreist før sentrifugering</p> <p>Påse at anvisninger for sentrifugering følges</p> <p>Kontroller at sentrifugen er i stand til å holde 18–25 °C</p> <p>Kontroller at sentrifugebremsen er avslått</p> <p>Øk sentrifugeringstrinnet med 10 min.</p>
Intet definert eller særskilt mononukleært lag	<p>Prøveseparasjon ikke fullført</p> <p>Sentrifugen er ikke ordentlig kalibrert</p> <p>Feil sentrifugering</p> <p>Hyperlipemisk prøve</p>	<p>Øk sentrifugeringstrinnet med 10 min.</p> <p>Få sentrifugen kalibrert</p> <p>Påse at anvisninger for sentrifugering følges</p> <p>Ta blodprøver fra fastende donor</p>
Ugyldige resultater	Ugyldige resultater kan forårsakes av en rekke feil ved håndtering av prøver	Se avsnittene over

Ordliste med symboler

	Siste forbruksdag / utløpsdato (år-måned-dag)
	Partinummer
	Katalognummer
	OBS, se bruksanvisningen
	Tilvirker
	Tilstrekkelig til «n» tester
	<i>In vitro</i> -diagnostisk utstyr
	Temperaturbegrensning / lagre mellom
	Se bruksanvisningen
	EU-autorisert representant

TCell *Xtend* og Oxford Immunotec-logoen er varemerker for Oxford Immunotec Limited.
Leucosep er et varemerke som tilhører Greiner Bio-One
AIM V er et varemerke for Life Technologies Corporation.
CPT er et varemerke for Becton, Dickinson and Company.

Bruken av TCell *Xtend*-reagensen er beskyttet av følgende patenter og pågående patenter:
EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2022, Oxford Immunotec Limited. Med enerett.

■ Produsent:

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

 EU-autorisert representant:

Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Den irske republikken

Revisjons- nummer	Utgivelsesdato	Endringer
1–4	Detaljer fås på henvendelse til	Oxford Immunotec.
5	juni 2022	Endring av produsentens adresse. Tilsetning av revisjonshistorikk. Tilsetning av instruksjoner for melding av alvorlige hendelser, EC REP og EU-importørdetaljer.
6	oktober 2022	Slett EU-importørdetaljer



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

www.oxfordimmunotec.com

