

Används vid insamling och separation av perifera mononukleära celler från helblod

BIPACKSEDEL

För *in vitro*-diagnostik

Denna bipacksedel beskriver användningen av:

Leucosep™ rör (katalognummer: LTK.615)

Avsedd användning

Leucosep-rör är avsedda att användas vid insamling och separation av perifera mononukleära celler (PBMC) från helblod. Rören underlättar separationen av PBMC från helblod vid användning av en polysackarid-baserad gradientseparationslösning, innan dessa celler används i ELISPOT-analyser.

Inledning

ELISPOT-tekniker använder T-celler i PBMC, vilka har separerats från helblod. En metod för separation av dessa celler kräver användning av en polysackarid-baserad gradientseparationslösning. Denna procedur omfattar ett antal steg som ska genomföras med omsorg för att säkerställa optimala resultat. Användningen av Leucosep-rör minskar antalet steg, gör proceduren robustare och minskar den tid som krävs för att genomföra separationsproceduren.

Metod

Leucosep-rör har utvecklats för att få optimal separation av PBMC från humant helblod med hjälp av densitetsgradientcentrifugering. Leucosep-rör består av en porös barriär i ett genomskinligt polypropenrör. Denna biologiskt inerta barriär består av polyeten av hög kvalitet. Leucosep-rör eliminerar den tidskrävande och mödosamma skiktningen av provmaterialet ovanpå en polysackarid-baserad gradientseparationslösning. Antikoagulerat helblod blandas med odlingsmedier och hålls sedan i Leucosep-rören. Den porösa barriären förhindrar att blodet blandas med separationsmediet. Vid centrifugering separeras PBMC från oönskade erythrocyter på grund av olika densitet och samlas i gränsskiktet ovanför separationsmediet. När separationen är klar förhindrar barriären att PBMC-skiktet återkontamineras när det avlägsnas.

Varningar och försiktighet

1. Endast för *in vitro*-diagnostik.
2. Endast för professionell användning; laboratoriepersonalen måste ha fått utbildning i metoden.
3. Blodproverna ska betraktas som potentiellt riskmaterial. Försiktighet ska iakttas vid hantering av material med humant ursprung.
4. Hantering av helblodprover och analyskomponenter i samband med användning, förvaring och avfallshantering ska ske i enlighet med de rutiner som anges i tillämpliga nationella säkerhetsanvisningar eller säkerhetsregler för biologiskt riskavfall.
5. Alla avvikelser från rekommenderade pipetteringsmetoder, tvättekniker, centrifugeringstider och/eller -temperaturer kan förändra renheten hos isolerade PBMC och påverka testresultaten.
6. Samla inte blod i CPT-rör (CPT™, Becton Dickinson) eller EDTA-rör, eftersom de är inkompatibla med Leucosep-rör.
7. Helblodprover får inte förvaras i kylskåp eller frysas. Förvara och transportera blodproverna till laboratoriet vid temperaturer på 18–25 °C eller 10–25 °C om proverna ska behandlas med T-Cell *Xtend*® reagens.
8. Blod ska inte förvaras längre än 8 timmar, eller 32 timmar om det senare behandlas med T-Cell *Xtend* reagens.
9. Använd endast engångsrör för venös blodprovstagning.
10. Får ej användas efter utgångsdatum.
11. Använd aseptisk teknik vid användning av denna produkt.
12. Leucosep-rör får ej förvaras i direkt ljus.
13. Får ej användas om Leucosep-rören är skadade eller om den polysackarid-baserade gradientseparationslösningen har försämrats, vilket indikeras av att det syns en tydlig gul färg eller partiklar i den klara lösningen.
14. Leucosep-rören får inte återanvändas. Varje rör är utformat för engångsanvändning.
15. Följ instruktionerna för blodprovstagning med rör för samling av helblod.

Medföljande material

Varje kartong innehåller:

50 Leucosep-rör förfyllda med en polysackarid-baserad gradientseparationslösning.

CD innehållande bipacksedeln och säkerhetsdatabladet.

Förvaring och stabilitet

Förvaras oöppnad vid 4–30 °C till det utgångsdatum som anges på kartongen. Den öppnade produkten förvaras vid rumstemperatur (18–25 °C) och används inom 12 veckor från öppnandet av ytterpåsen eller före det utgångsdatum som anges på kartongen, beroende på vilket som är tidigast.

Utrustning och material som behövs men inte medföljer

1. Hepariniserade rör för blodprovstagning.
2. Cellodlingsmedierna AIM-V® och RPMI.
3. 15 mL centrifugrör.
4. En centrifug för fraktionering av PBMC med minst 1 000 RCF (g), vilken kan hålla proverna vid rumstemperatur (18–25 °C).
5. Säkerhetsbänk klass 2 (BL 2) (rekommenderas).
6. Pipetter och sterila pipettspetsar.
7. ELISPOT-kit.
8. T-Cell *Xtend* reagens kan behövas om prover som är äldre än 8 timmar används.

Procedur

Obs! Följande steg måste genomföras under iakttagande av god labororiesed (GLP):

1. Se till att det antal Leucosep-rör som behövs har rumstemperatur (18–25 °C) innan de används.
2. Om den polysackarid-baserade gradientseparationslösningen har samlats ovanför den porösa barriären (frittan) centrifugeras Leucosep-rören vid 350 × g i en minut för att förflytta den polysackarid-baserade gradientseparationslösningen under frittan.
3. Vänd helblodprovet upp och ned och späd sedan i förhållandet 5 delar blod till 3 delar AIM V eller RPMI cellodlingsmedium i ett 15 mL centrifugrör. Blanda genom att vända centrifugröret upp och ned flera gånger.
4. Håll det utspädda blodet direkt i Leucosep-röret och centrifugera vid 1 000 × g i 10 minuter vid 18–25 °C utan broms.
5. Sug bort det grumliga PBMC-skiktet och fyll på till ~10 mL med AIM V eller RPMI i ett 15 mL centrifugrör. Blanda genom att vända centrifugröret upp och ned.
6. Centrifugera vid 600 × g i 7 minuter. Kasta supernatanten.
7. Resuspendera cellpelleten med AIM V eller RPMI, fyll på till ~10 mL med AIM V eller RPMI och centrifugera vid 350 × g i ytterligare 7 minuter.
8. Kasta supernatanten och resuspendera cellpelleten i den volym av AIM V (**inte** RPMI) som behövs för ELISPOT-analysen.
9. Om cellerna behövs till antigenstimulering i en ELISPOT-analys späds cellerna därefter med AIM V (**inte** RPMI).

Begränsningar

1. På samma sätt som med andra separationsmetoder kan Leucosep-rör förändra proportionerna av vissa undergrupper av PBMC (t.ex. T- och B-celler) jämfört med proportionerna i icke-separerat helblod. I normala fall anses denna förändring vara relativt obetydlig.

Kvalitetskontroll

Som en del av det enskilda laboratoriets kvalitetskontroll bör man utforma och validera cellräkningsmetoder som säkerställer att tillräckligt antal PBMC har erhållits för det relevanta testsystemet. Dessutom bör man vid kvalitetskontrollen använda positiva och negativa kontroller som är framtagna för att säkerställa förväntad prestanda hos T-cellerna inom det relevanta testsystemet.

Prestandaegenskaper

Färskt blod

6 mL blod erhöles från 15 donatorer. Prover från varje donator behandlades inom 8 timmar efter venpunktion. Proverna behandlades med hjälp av Leucosep-rör fyllda med polysackarid-baserade separationsmedier. Isolerade celler var livskraftiga och funktionella i ELISPOT-analysen.

Förvarat blod som behandlas med T-Cell *Xtend* reagens

Blodprover från 205 donatorer erhöles och användes för att analysera cellåtervinning med hjälp av Leucosep-rör fyllda med polysackarid-baserade separationsmedier. 6 mL blod samlades in från varje donator och blodet behandlades i 29–32 timmar efter venpunktion med T-Cell *Xtend* reagens.

Isolerade celler var livskraftiga och funktionella i ELISPOT-analysen.

Obs: Det rekommenderas att 6 mL blod används per donator. En minskning av blodvolymen kan påverka cellåtervinningen.

Rapportering av allvarliga tillbud

Om ett allvarligt tillbud inträffar vid användning av denna enhet skall detta rapporteras till kundtjänst. I Europeiska unionens medlemsstater skall tillbud även rapporteras till behörig myndighet (det statliga organ som ansvarar för medicinsk utrustning för in vitro-diagnostik) i ditt land. Se Läkemedelsverkets webbplats för information om hur du kontaktar din behöriga myndighet. Med "allvarligt tillbud" avses ett tillbud som direkt eller indirekt orsakat, kan ha orsakat eller kan orsaka:

- en patients, användares eller annan persons död,
- en tillfällig eller bestående allvarlig försämring av en patients, användares eller annan persons hälsotillstånd,
- ett allvarligt hot mot folkhälsan.

Kontaktuppgifter till kundtjänst











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

Besök vår webbplats för nedladdningsbart produktstöd och ytterligare information:
www.oxfordimmunotec.com

Felsökningsguide vid insamling och separation av PBMC för ELISPOT

Problem	Möjlig orsak	Möjlig lösning
Lågt cellutbyte	<p>Leukopeni</p> <p>Felaktig blodprovstagning</p> <p>Blodprovsrören håller inte rumstemperatur (18–25 °C)</p> <p>Blodet har inte förvarats vid erforderlig temperatur</p> <p>Användning av andra volymer eller spädningar än dem som rekommenderats</p>	<p>Lägg till ytterligare ett blodprovsrör</p> <p>CPT-rör och blodprovsrör innehållande EDTA är inte kompatibla med Leucosep-rör</p> <p>Låt blodprovsrören anta rumstemperatur</p> <p>Se till att blodet transporteras vid 18–25 °C eller 10–25 °C om T-Cell <i>Xtend</i> reagens används</p> <p>Se till att rätt instruktioner följs</p>
Kontaminering med röda blodkroppar	<p>Blodet har inte förvarats vid erforderlig temperatur</p> <p>Blodprovsrören håller inte rumstemperatur (18–25 °C)</p> <p>Blodet har inte späts</p> <p>Omblandning av blodprov i Leucosep-röret</p> <p>Felaktig centrifugering</p> <p>Ofullständig separation av prov</p>	<p>Se till att blodet transporteras vid 18–25 °C eller 10–25 °C om T-Cell <i>Xtend</i> reagens används</p> <p>Låt blodprovsrören anta rumstemperatur</p> <p>Se till att blodet späds enligt metoden</p> <p>Se till att Leucosep-röret hålls upprätt tills det ska centrifugeras</p> <p>Se till att centrifugeringsinstruktionerna följs</p> <p>Kontrollera att centrifugen kan kyla till 18–25 °C</p> <p>Kontrollera att centrifugens broms är urkopplad</p> <p>Förläng centrifugeringssteget med tio minuter</p>
Inget definierat eller tydligt skikt med mononukleära celler	<p>Ofullständig separation av prov</p> <p>Centrifugen är inte rätt kalibrerad</p> <p>Felaktig centrifugering</p> <p>Hyperlipidemiskt prov</p>	<p>Förläng centrifugeringssteget med tio minuter</p> <p>Låt kalibrera centrifugen</p> <p>Se till att centrifugeringsinstruktionerna följs</p> <p>Ta fastebloodprov</p>
Ogiltiga resultat	Ogiltiga resultat kan orsakas av olika typer av felaktig provhantering	Se avsnitten ovan

Symbolordlista

	Används före/Utgångsdatum (År-Månad-Dag)
	Batchnummer
	Katalognummer
	Obs! Se bruksanvisningen
	Tillverkare
	Räcker till "n" tester
	<i>In vitro</i> -diagnostisk utrustning
	Temperaturgräns/Förvaras mellan
	Se bruksanvisningen
	Auktoriserad representant inom EU

T-Cell Xtend och Oxford Immunotec-logotypen är varumärken som tillhör Oxford Immunotec Limited.

Leucosep är ett varumärke som tillhör Greiner Bio-One

AIM-V är ett varumärke som tillhör Life Technologies Corporation.

CPT är ett varumärke som tillhör Becton, Dickinson and Company.

Användning av reagenset T-Cell *Xtend* skyddas av följande patent:

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

© 2022, Oxford Immunotec Limited. Alla rättigheter förbehålles.

 Tillverkare:

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Storbritannien
+44(0)1235 442780
www.oxfordimmunotec.com

 Auktoriserad representant inom EU

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

Revisionsnummer	Utfärdandedatum	Ändringar
1–4	Information tillgänglig på begäran från Oxford Immunotec.	
5	Juni 2022	Ändring av tillverkarens adress Tillägg av revisionshistorik. Tillägg av instruktioner för att rapportera allvarliga tillbud, och detaljer för EC REP och Importör till Europeiska unionen.
6	oktober 2022	Radera detaljer för Importör till Europeiska unionen



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

www.oxfordimmunotec.com

