













## SYMBOLE

|   |   |  |
|---|---|--|
|  <b>IVD</b>                              | In-vitro-Diagnostikum                             |  Mindestens haltbar bis JJJJ-MM-TT  |
|  <b>LOT</b>                              | Losnummer   |  Herstellungsdatum                  |
|  <b>Zulässiger Temperaturbereich</b>     |   |  Hersteller                         |
|  <b>Vorsicht: Begleitdokumente lesen</b> |   |  Anwendungshinweise beachten        |
|  <b>EC REP</b>                           | Autorisierte Vertretung in der Europäischen Union |  <b>STERILE R</b> Steril, Strahlung |
|  <b>Nur einmal verwenden</b>             |   |  <b>Warnhinweis</b>                 |
|  <b>REF</b>                              | Katalog-Nummer                                    |  |

## VERWENDUNGSZWECK

Das CellSave-Konservierungsröhrchen dient zur Entnahme und Konservierung zirkulierender Epithelzellen (Tumorzellen) in Vollblut zum Zweck der Quantifizierung und Phänotypisierung.

## ANWENDUNGSGEBIET

CellSave-Konservierungsröhrchen können zur Beobachtung zirkulierender Epithelzellen (Tumorzellen) eingesetzt werden und so einen möglichen Beitrag zur Behandlung von Tumorpatienten leisten.

## PRODUKTBESCHREIBUNG

CellSave-Röhrchen sind Vakuum-Blutentnahmeröhrchen, die das EDTA-Antikoagulans und ein Zellkonservierungsmittel enthalten. Das Vakuum kann ungefähr 10 mL Blut aufnehmen. Das Innere der Röhrchen ist steril. CellSave Röhrchen sind für die Verwendung zusammen mit Menarini Silicon Biosystems Instrumenten vorgesehen.

## FUNKTIONSWEISE

CellSave-Röhrchen sind Vakuum-Blutentnahmeröhrchen, die in Verbindung mit einer Standard-Ausrüstung zur Blutentnahme aus der Vene verwendet werden. Ein Röhrchen enthält ungefähr 300 µL einer Lösung mit Na<sub>2</sub>EDTA und einem Zellkonservierungsmittel. Das EDTA absorbiert Kalziumionen und verhindert so die Blutgerinnung. Durch das Konservierungsmittel bleiben die Morphologie und die Oberflächenantigenexpression der Epithelzellen intakt. In jedem Röhrchen herrscht ein Vakuum, das bei Anwendung der Standard-Phlebotomieverfahren 10,0 mL venöses Vollblut aufnehmen kann.

## EINSCHRÄNKUNGEN

- Das Volumen des entnommenen Bluts kann abhängig von Höhe über dem Meeresspiegel, Umgebungstemperatur, Luftdruck, Alter des Röhrchens, Venendruck und Abfüllverfahren schwanken.
- Die Proben müssen innerhalb von 96 Stunden nach der Entnahme verarbeitet werden.
- Prüfen Sie die Probenintegrität gemäß dem Benutzerhandbuch des CELLTRACKS ANALYZER II®, um seltene Zellanalysen mit dem CELLTRACKS ANALYZER II® durchzuführen.

## VORSICHTSMASSNAHMEN

- Wenn die Röhrchen bei Temperaturen von 0 °C oder darunter gelagert werden, können sie zerbrechen.
- Drücken Sie den Gummistopfen nicht mit dem Daumen heraus. Entfernen Sie den Gummistopfen durch Drehen und Ziehen.
- Verwenden Sie die Röhrchen nicht, wenn sich Fremdkörper darin befinden.
- Beachten Sie die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen. Tragen Sie Handschuhe, Kittel, Augenschutz sowie andere persönliche Schutzausrüstung und setzen Sie technische Hilfsmittel ein, um sich vor spritzendem oder auslaufendem Blut und dem möglichen Kontakt mit hämatogenen Krankheitserregern zu schützen.
- Alle Gegenstände aus Glas können zerbrechen. Untersuchen Sie vor der Verwendung alle Komponenten aus Glas auf mögliche Transportschäden. Ergreifen Sie beim Umgang mit diesen Komponenten Vorsichtsmaßnahmen.
- Behandeln Sie alle biologischen Proben und alle spitzen, bei der Blutentnahme verwendeten Gegenstände (Lanzetten, Nadeln, Luer-Adapter und Blutentnahme-Sets) entsprechend den in Ihrer Einrichtung geltenden Richtlinien und Verfahrensweisen. Begeben Sie sich bei Kontakt mit biologischen Proben (etwa durch eine Stichverletzung) in entsprechende ärztliche Behandlung, da durch Kontakt mit Blut Virushepatitis, HIV (AIDS) und andere Infektionskrankheiten übertragen werden können. Verwenden Sie die eingebaute Nadelschutzvorrichtung, falls das zur Blutentnahme verwendete Instrument eine solche besitzt. Menarini Silicon Biosystems empfiehlt nicht das Abschirmen gebrauchter Nadeln. Die in Ihrer Einrichtung geltenden Richtlinien und Verfahrensweisen können jedoch davon abweichen und müssen in jedem Fall befolgt werden.
- Entsorgen Sie alle spitzen, bei der Blutentnahme verwendeten Gegenstände in Behältern für biogefährliches Material, die für die Entsorgung solcher Gegenstände zugelassen sind.

- Es wird nicht empfohlen, Blutproben zu übertragen, die mit Spritze und Nadel entnommen wurden. Der zusätzliche Umgang mit spitzen Gegenständen wie Hohladeln erhöht das Risiko von Stichverletzungen.
- Die Übertragung von Proben aus einer Spritze in ein CellSave-Röhrchen mit einem nicht spitzen Gegenstand sollte aus den unten aufgeführten Gründen mit Vorsicht durchgeführt werden. Das Herunterdrücken des Spritzenkolbens während der Übertragung kann einen Überdruck erzeugen. Dadurch kann der Gummistopfen gewaltsam verschoben werden, sodass Blut herausspritzt und es zu einem möglichen Kontakt mit Blut kommen kann. Bei der Blutübertragung mit einer Spritze kann es auch zu einer Über- oder Unterfüllung der Röhrchen kommen. Dies führt zu einem falschen Blut-Additiv-Verhältnis und damit möglicherweise zu fehlerhaften Analyseergebnissen. CellSave-Röhrchen wurden für die Aufnahme eines bestimmten Volumens konzipiert. Die Befüllung ist abgeschlossen, wenn das Vakuum kein Blut mehr zieht. Es ist allerdings möglich, dass sich manche Röhrchen bei der Befüllung mit einer Spritze aufgrund des Kolbenwiderstands nur teilweise füllen.
- Falls die Blutentnahme durch eine intravenöse Leitung erfolgt, vergewissern Sie sich, dass sich in der Leitung keine Infusionslösung mehr befindet, bevor Sie mit der Befüllung der CellSave-Röhrchen beginnen.
- Eine Über- oder Unterfüllung der Röhrchen führt zu einem falschen Blut-Additiv-Verhältnis und damit möglicherweise zu fehlerhaften Analyseergebnissen.
- Vorsicht: Bei Lagerung und Transport der Proben müssen Temperaturen von 15–30 °C eingehalten werden. Das Aufbewahren der Proben im Kühlschrank vor der Verarbeitung kann sich nachteilig auf die Integrität der Proben auswirken.
- WARNHINWEIS!** Dieses Reagenz enthält Imidazolidinyl-Harnstoff. Im folgenden sind die Gefahren- und Sicherheitshinweise angeführt:<sup>1</sup>  
H317 kann eine allergische Hautreaktion hervorrufen.  
Prävention:  
P261 Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dämpfen/Spray vermeiden.  
P272 kontaminierte Arbeitskleidung darf nicht außerhalb des Arbeitsplatzes getragen werden.  
P280 Geeignete Schutzhandschuhe tragen!  
Reaktion:  
P333 + P313 Wenn Hautreizung oder Hautausschlag auftritt: ärztlichen Rat einholen/ Arzt aufsuchen.  
P362 + P364 Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.  
Entsorgung:  
P501 Inhalt/Behälter in einer zugelassenen Entsorgungsanlage entsorgen.  
Weitere Informationen finden Sie im Sicherheitsdatenblatt auf [www.cellsearchctc.com](http://www.cellsearchctc.com)

## Verhinderung eines Rückflusses

Da das CellSave-Konservierungsröhrchen Additive enthält, ist es besonders wichtig, einen möglichen Rückfluss aus dem Röhrchen zu verhindern, da dies Nebenwirkungen nach sich ziehen kann. Treffen Sie folgende Vorsichtsmaßnahmen, um einen Rückfluss zu verhindern:

- Positionieren Sie den Arm des Patienten abwärts gerichtet.
- Halten Sie das Röhrchen so, dass der Gummistopfen nach oben zeigt.
- Lösen Sie den Stauschlauch, sobald das Blut zu fließen beginnt.
- Stellen Sie sicher, dass die Lösung im Röhrchen während der Venenpunktion nicht mit dem Gummistopfen oder dem Nadelende in Berührung kommt.

## LAGERUNG

- Lagerung der Röhrchen bei 4–30 °C. Nur verwenden, wenn das Additiv klar und farblos ist. Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Bei Lagerung und Transport der Proben Temperaturen von 15–30 °C einhalten. Für den Transport bei extremen Temperaturbedingungen ist möglicherweise eine angemessene Isolierung erforderlich.**

## VORGEHENSWEISE

### Im Lieferumfang enthaltene Materialien

CellSave-Konservierungsröhrchen. Inhalt: 300 µL Lösung mit 4,6% Na<sub>2</sub>EDTA und 36% Zellkonservierungsmittel, 0,36% Polyethylenglykol, 0,46% inerte Inhaltsstoffe.

### Benötigte, nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- Nadeln und Adapter zur Blutentnahme, Alkoholtupfer, Stauschlauch
- Führen Sie die Venenpunktion nach CLSI-Anleitung H3-A6, *Procedure for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture* (Verfahren zur Entnahme von Blutproben zu Diagnosezwecken durch Venenpunktion), durch. Falls mehrere Röhrchentypen befüllt werden müssen, füllen Sie zuerst die CellSave-Röhrchen.
  - Füllen Sie das Röhrchen, bis der Blutfluss aufhört.
  - Nehmen Sie das Röhrchen vom Adapter ab, und drehen Sie es 8 Mal vorsichtig um, damit sich die Inhaltsstoffe vermischen. Das Umdrehen des Röhrchens verhindert die Gerinnung. Eine nicht ausreichende oder zu späte Vermischung kann zu fehlerhaften Testergebnissen führen.
  - Verarbeiten Sie die Probe innerhalb von 96 Stunden nach der Entnahme. Lagern Sie Proben bei Temperaturen von 15–30 °C.

## LEISTUNGSFÄHIGKEIT

### Detektion

Die Detektion wurde ermittelt, indem Proben mit einer niedrigen Konzentration von Tumorzellen (0, 50, 100 und 200 Zellen/7,5 mL) und einer hohen Konzentration von Tumorzellen (0, 100, 1.000 und 10.000 Zellen/7,5 mL) versetzt wurden. Blut von 5 gesunden Spendern wurde in CellSave-Röhrchen abgefüllt und mit SKBR-3-Zellen (einer Brustkrebs-Zelllinie) versetzt. Die Proben wurden im halbautomatischen CELLPREP™ Probenvorbereitungssystem verarbeitet und mit DNA-Farbstoff, Anti-CD45-APC und Anti-CK-PE gefärbt. Anschließend wurden die Proben im FACSCalibur-Durchflusszytometer mit Beads analysiert, um die absolute Anzahl der Zellen zu ermitteln. Beim Experiment mit niedriger Tumorzellen-Konzentration lautete die Regressionsgleichung  $y=0,8x+4,7$ ; der Korrelationskoeffizient lag bei  $R^2=0,98$ . Beim Experiment mit hoher Tumorzellen-Konzentration lautete die Regressionsgleichung  $y=0,9x+6,2$ ; der Korrelationskoeffizient lag bei  $R^2=0,99$ .

**Tabelle 1.** Detektionswerte für niedrige und hohe Konzentrationen von SKBR-3-Tumorzellen

| Spender     | Niedrige Konzentration |       |       |       | Hohe Konzentration |       |       |        |
|-------------|------------------------|-------|-------|-------|--------------------|-------|-------|--------|
|             | 0                      | 50    | 100   | 200   | 0                  | 100   | 1.000 | 10.000 |
| A           | 2                      | 31    | 89    | 164   | 2                  | 84    | 876   | 8.259  |
| B           | 2                      | 44    | 97    | 141   | 4                  | 74    | 775   | 8.185  |
| C           | 5                      | 51    | 92    | 175   | 1                  | 75    | 880   | 9.342  |
| D           | 1                      | 46    | 81    | 153   | 2                  | 118   | 846   | 8.030  |
| E           | 4                      | 52    | 82    | 181   | 2                  | 106   | 959   | 9.014  |
| Mittelwert  | 3                      | 45    | 88    | 163   | 2                  | 91    | 867   | 8.566  |
| % Detektion |                        | 89,3% | 88,2% | 81,4% |                    | 91,3% | 86,7% | 85,7%  |

**Interferenzstoffe**

Blut von 5 gesunden Spendern wurde in EDTA- und CellSave-Röhrchen abgefüllt und mit ungefähr 800 SKBR-3-Zellen versetzt. Die CellSave-Röhrchen wurden mit potenziellen Interferenzstoffen versetzt (hämolytisches Blut 5+, lipämisches Blut 1,94–2,04% emulgiertes Fett, ikterisches Blut 7,0 mg/dL), um deren Auswirkung auf die Detektion und Quantifizierung der Tumorzellen zu ermitteln. Doppelte Proben wurden mit dem halbautomatischen CELLPREP™ Probenvorbereitungssystem verarbeitet und mit dem FACSCalibur-Durchflusszytometer analysiert. Hämolytische, lipämische und ikterische Vollblutproben, die in ein CellSave-Röhrchen abgefüllt werden, haben keine Auswirkungen auf die Detektion und Quantifizierung von Tumorzellen.

**Tabelle 2.** Detektion von zugesetzten Tumorzellen für 7,5 mL Vollblut

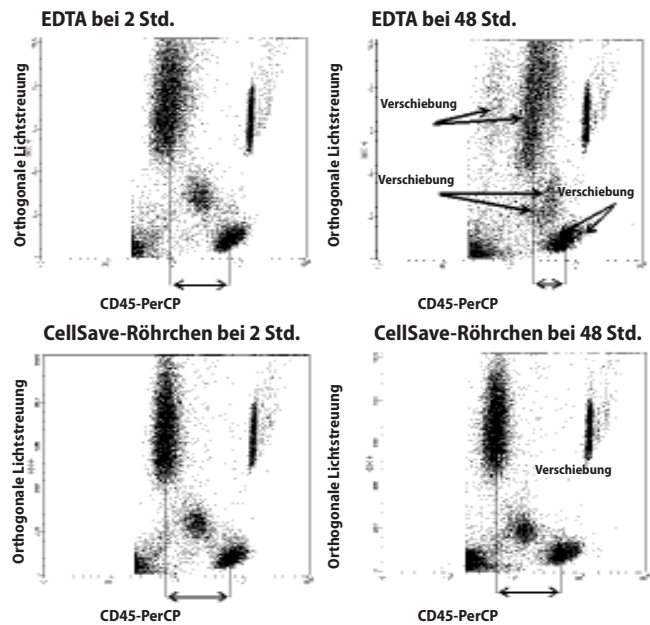
| Spender    | EDTA-Kontrolle       |                   |             | CellSave-Kontrolle   |                   |             |
|------------|----------------------|-------------------|-------------|----------------------|-------------------|-------------|
|            | # Detektierte Zellen | # Zugegeb. Zellen | % Detektion | # Detektierte Zellen | # Zugegeb. Zellen | % Detektion |
| A1         | 452                  | 828               | 55%         | 388                  | 696               | 56%         |
| A2         | 445                  | 828               | 54%         | 486                  | 696               | 70%         |
| B1         | 802                  | 749               | 107%        | 689                  | 696               | 99%         |
| B2         | 711                  | 749               | 95%         | 690                  | 696               | 99%         |
| C1         | 580                  | 771               | 75%         | 289                  | 716               | 40%         |
| C2         | 451                  | 771               | 58%         | 272                  | 716               | 38%         |
| D1         | 571                  | 771               | 74%         | 552                  | 716               | 77%         |
| D2         | 642                  | 771               | 83%         | 636                  | 716               | 89%         |
| E1         | 610                  | 771               | 79%         | 526                  | 716               | 73%         |
| E2         | 541                  | 771               | 70%         | 535                  | 716               | 75%         |
| Mittelwert | 581                  | 771               | 75%         | 506                  | 716               | 72%         |
| SD         | 117                  | 771               | 17%         | 150                  | 716               | 22%         |

| Spender    | CellSave, hämolytisches Blut |                   |             | CellSave, lipämisches Blut |                   |             | CellSave, ikterisches Blut |                   |             |
|------------|------------------------------|-------------------|-------------|----------------------------|-------------------|-------------|----------------------------|-------------------|-------------|
|            | # Detektierte Zellen         | # Zugegeb. Zellen | % Detektion | # Detektierte Zellen       | # Zugegeb. Zellen | % Detektion | # Detektierte Zellen       | # Zugegeb. Zellen | % Detektion |
| A1         | 482                          | 696               | 69%         | 664                        | 696               | 95%         | 638                        | 696               | 92%         |
| A2         | 502                          | 696               | 72%         | 691                        | 728               | 95%         | 612                        | 728               | 84%         |
| B1         | 514                          | 696               | 74%         | 748                        | 696               | 107%        | 678                        | 696               | 97%         |
| B2         | 571                          | 696               | 82%         | 712                        | 696               | 102%        | 679                        | 696               | 98%         |
| C1         | 499                          | 716               | 70%         | 568                        | 716               | 79%         | 561                        | 716               | 78%         |
| C2         | 470                          | 716               | 66%         | 599                        | 716               | 84%         | 514                        | 716               | 72%         |
| D1         | 582                          | 716               | 81%         | 628                        | 716               | 88%         | 651                        | 716               | 91%         |
| D2         | 551                          | 716               | 77%         | 549                        | 716               | 77%         | 589                        | 716               | 82%         |
| E1         | 571                          | 716               | 80%         | 620                        | 716               | 87%         | 554                        | 716               | 77%         |
| E2         | 499                          | 716               | 70%         | 620                        | 716               | 87%         | 584                        | 716               | 82%         |
| Mittelwert | 524                          | 716               | 74%         | 640                        | 716               | 90%         | 606                        | 716               | 85%         |
| SD         | 41                           | 716               | 6%          | 63                         | 716               | 10%         | 55                         | 716               | 9%          |

**Antigenkonservierung für die Phänotypisierung**

Die Fähigkeit, die verschiedenen Zellpopulationen eindeutig voneinander zu unterscheiden, hängt vom Alter der Probe zum Zeitpunkt der Analyse ab, sofern die Probe nicht konserviert wurde. Die Integrität der Leukozyten ist ein Indikator für die Qualität der Probe, wenn eine Analyse zirkulierender Tumorzellen durchgeführt wird. Abbildung 1 zeigt ein typisches Beispiel für die Dichte des CD45-Antigens verschiedener Zellpopulationen bei einem Vergleich von Blutproben, die in ein Standard-EDTA-Röhrchen bzw. ein CellSave-Röhrchen abgefüllt wurden. Das Blut wurde innerhalb von 2 Stunden nach der Entnahme analysiert. Die Analyse wurde etwa 48 Stunden nach der Blutentnahme wiederholt. Der Grad der Separation zwischen Lymphozyten und Granulozyten lässt sich an der Länge der horizontalen Striche an der X-Achse jedes Diagramms ablesen. Im EDTA-Röhrchen nimmt die Separation zwischen beiden Zellpopulationen mit zunehmendem Alter der Probe ab. Im CellSave-Röhrchen bleibt die Separation dagegen konstant. Die Pfeile in der Abbildung, die auf die Populationen von Lymphozyten, Monozyten und Granulozyten weisen, zeigen die Verschiebung dieser Zellpopulationen aufgrund der Alterung der Blutproben. Dadurch wird es schwieriger, diese Zellpopulationen voneinander zu unterscheiden.

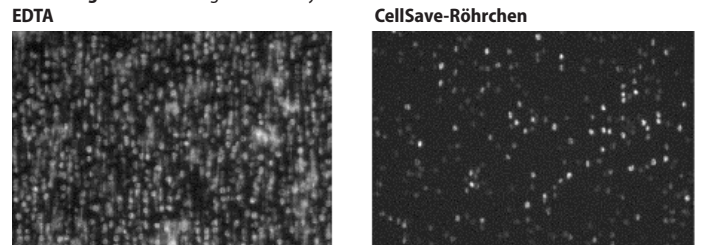
**Abbildung 1.** Separation von Zellhaufen mit zunehmendem Alter von Blutproben, die mit EDTA- bzw. CellSave-Röhrchen entnommen wurden.



**Qualität der Blutproben**

Die Qualität der Blutproben ist von großer Bedeutung für die korrekte Detektion seltener Epithelzellen. An der Integrität der Leukozyten in Blutproben, in denen Epithelzellen mit dem CELLPREP™-System immunmagnetisch angereichert wurden, lässt sich die Qualität der Proben ausgezeichnet ablesen. Abbildung 2 zeigt die Kernfärbung (DAPI) von Blutproben, die mit EDTA- bzw. CellSave-Röhrchen entnommen wurden und nach 24 Stunden mit einem CELLPREP™-System verarbeitet wurden. Die Bilder wurden in zehnfacher Vergrößerung mit einem Fluoreszenzmikroskop aufgenommen. Während die Probe im EDTA-Röhrchen viel Kernmaterial enthält, sind in der Probe im CellSave-Röhrchen nur runde Objekte (Leukozyten) vorhanden.

**Abbildung 2.** Kernfärbung von Leukozyten in EDTA- und CellSave-Röhrchen.



CELLSEARCH®, CELLTRACKS®, CELLTRACKS ANALYZER II® und AUTOPREP® sind Marken von Menarini Silicon Biosystems Inc.

Diese Technologie, einschließlich Produkte und/oder hierin beschriebene, damit verbundene Komponenten, Verfahren und Geräte sind geschützt durch US-Patente und entsprechende internationale Patente sowie angemeldete Patente mit einer oder mehreren der folgenden Nummern: US-Patentnummern 6,136,182; 6,551,843; 6,623,982; 6,790,366; 7,011,794, und 7,332,288.

**LITERATUR**

1. Safety Data Sheet according to Regulation (EC) No. 1907/2006, CellSave Preservative 20 Tubes, Version 1.1, Revision Date 2015-03-20



Menarini Silicon Biosystems Inc.  
3401 Masons Mill Road, Suite 100  
Huntingdon Valley, PA 19006  
USA  
documents.cellsearchctc.com  
Telefon: 1-877-837-4339  
00 8000 8374339 (EU)

EC REP Menarini Silicon Biosystems SpA  
Via Giuseppe Di Vittorio 21B/3  
40013 Castel Maggiore (Bologna)  
Italy

