



T-Cell Xtend®

Tisztított limfociták preparálásához és izolálásához
közvetlenül teljes vérből

TERMÉKISMERTETŐ

In vitro diagnosztikai alkalmazásra



Harnessing the power of T cell measurement

Útmutató tájékoztatás

Rendeltetés

A T-Cell *Xtend* reagens rendeltetése teljes vérből tisztított T-sejtek preparálásához való felhasználás. A reagens lehetővé teszi a limfociták laboratóriumi izolálását teljes vérből, kereskedelmi forgalomban kapható ELISPOT-módszerrel végzendő vizsgálathoz, a vénapunkciót követően akár 32 órával.

Bevezetés

Az ELISPOT-technikák validálása általában a vérmintáknak a vénapunkciótól számított 8 órán belül történő feldolgozására terjed ki. A vér kezelésének ez az időbeosztása kihatással lehet a laboratóriumi személyzetre és az eljárásokra azáltal, hogy korlátozza a teszt elvégzésének munkafolyamatát. A T-Cell *Xtend* reagens beépítése az ELISPOT-folyamatba fokozott rugalmasságot nyújt a laboratóriumnak. A vérminták éjszakán át szállíthatók vagy tárolhatók anélkül, hogy ez a T-sejtek funkciójára vagy teljesítményére hatással lenne.

A módszer elve

A T-Cell *Xtend* reagens segédeszközként való alkalmazásával a teljes vérből történő limfocita-elkülönítés során tökéletesíthető a tárolt mintákon végzett ELISPOT-tesztek feldolgozásának logisztikája. Az éjszakán át tárolt teljes vérből izolált T-sejtek ELISPOT-tesztben csökkent választ adnak az antigén-stimulációra, elsősorban a perifériális vér mononukleáris sejt (PBMC) rétegében jelen lévő szennyező sejtpopulációk miatt. A T-Cell *Xtend* reagens bispecifikus monoklonális antitesteket tartalmaz, amelyek bizonyos kiválasztott fehérvérsejtek felszíni markerei és a vörösvértesteken található glikoforin-A ellen irányulnak. A T-Cell *Xtend* reagens keresztkötéseket hoz létre bizonyos kiválasztott fehérvérsejtek és a vörösvértestek között, ami növeli e kiválasztott sejtek sűrűségét. Amikor sűrűség-gradienst alkalmaznak a FICOLL™-extrakció során, a kiválasztott fehérvérsejtek a PBMC-rétegtől elkülönülve, a vörösvértestek rétegében maradnak. Ekkor a ki nem választott sejtek, közöttük a T-sejtek és az antigén-prezentáló sejtek a PBMC-rétegben vannak. A vizsgálatok kimutatták, hogy az éjszakán át tárolt vérből a T-Cell *Xtend* reagens felhasználásával preparált T-sejtek funkcionalitása a frissen vett vérből meghatározottával összehasonlítható.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

1. Kizárólag *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra.
2. Kizárólag szakemberek általi használatra; a felhasználókat ki kell képezni ennek az eljárásnak a végzésére.
3. A vérmintákat potenciálisan veszélyesnek kell tekinteni. Emberi eredetű anyagok kezelésénél óvatosan kell eljárni.
4. A teljesvér-mintáknak és a teszt komponenseinek felhasználása, tárolása és hulladékba helyezése során a megfelelő nemzeti biobiztonsági irányelvekben vagy előírásokban meghatározott eljárásoknak megfelelően kell eljárni.
5. A pipettázásra, a mosási technikákra, valamint az inkubálási időkre és/vagy hőmérsékletekre javasolt eljárásoktól való bármilyen eltérés befolyásolhatja a teszt eredményét.
6. Ne gyűjtse a vért sejtpreparáló csövekbe (Cell Preparation Tubes, CPT™, Becton Dickinson) vagy EDTA-s vérvételi csövekbe, mert ezek nem kompatibilisek a T-Cell *Xtend* reagenssel.
7. A teljesvér-mintákat nem szabad hűteni vagy fagyasztani. A vérmintákat 10-25°C közötti hőmérsékleten kell tárolni és szállítani.
8. A T-Cell *Xtend* reagenst a minta feldolgozása előtt kell a teljes vérhez hozzáadni.
9. A T-Cell *Xtend* reagenst ne hígítsa és közvetlenül ne adjon hozzá más komponenseket.
10. Vénásvér-minták gyűjtésére kizárólag egyszer használatos csöveket használjon.
11. Egyazon betegről származó mintában ne vegyítsen össze különböző gyártási tételekből származó reageneket.
12. A lejáratú időn túl ne használja.
13. Ne használja 32 óránál hosszabb ideig tárolt teljesvér-mintához.
14. E termék felhasználásakor alkalmazzon aseptikus technikákat.

Mellékelt anyagok

A doboz tartalma:

T-Cell *Xtend* monoklonális antitest három (3) db 2 ml-es csőben.

Tárolás és stabilitás

A T-Cell *Xtend* reagens felbontatlan csövei a dobozon feltüntetett lejárati idő leteltéig 2-8 °C-on tárolandók. A felnyitott és visszazárt csövek 2-8 °C-on tárolandók, és 12 héten belül felhasználhatók, hacsak közben a dobozon feltüntetett lejárati idő le nem telik.

Szükséges, de nem mellékelt felszerelések és anyagok

1. Heparinizált vérvételi csövek.
2. FICOLL, vagy egyéb választható anyagok PBMC elválasztásához, azaz Accuspin™ vagy Leucosep csövek.
3. Ha a PBMC-k izolálása sűrűséggradiens-centrifugálási módszerekkel történik: legalább 1800 RCF (g) előállítására, valamint a minták szobahőmérsékleten (18-25 °C) való tartására képes centrifuga a PBMC-k izolálásához.
4. 2. biobiztonsági szintű (BL 2) fülke (javasolt).
5. Pipetták és steril pipettahegyek.
6. ELISPOT kit.

Eljárás

Megjegyzés: A következő lépések a helyes laboratóriumi gyakorlat elveinek megfelelően végzendők:

1. Gyűjtse a teljes vért lítium-heparinos vérvételi csövekbe és tárolja legfeljebb 32 órán át 10-25 °C-on.
2. Közvetlenül a kereskedelmi forgalomban kapható ELISPOT-tesztben való felhasználást megelőzően adjon a begyűjtött teljes vérhez ml-enként 25 µl T-Cell *Xtend* reagenst: távolítsa el a gyűjtőcső kupakját, és pipettázza a csőbe a javasolt térfogatú oldatot.
3. Helyezze vissza a kupakot és 8-10-szer óvatosan fordítsa fel, majd vissza a vérvételi csövet.
4. Az T-Cell *Xtend* reagenst tartalmazó teljes vért inkubálja 20 ± 5 percig szobahőmérsékleten (18-25 °C).
5. FICOLL sűrűséggradiens-centrifugálással vagy egyéb választható izoláló módszerrel izolálja a PBMC-frakciót.
6. Az ELISPOT kit gyártója által megadott használati utasítás szerint készítse elő a PBMC-t az ELISPOT-teszthez.

Megjegyzés: Az egyes laboratóriumoknak validálniuk kell a PBMC-k gyűjtésére és izolálására szolgáló eljárásaikat annak biztosításához, hogy elegendő legyen az összegyűjtött sejtek száma. A következők betartása javasolt:

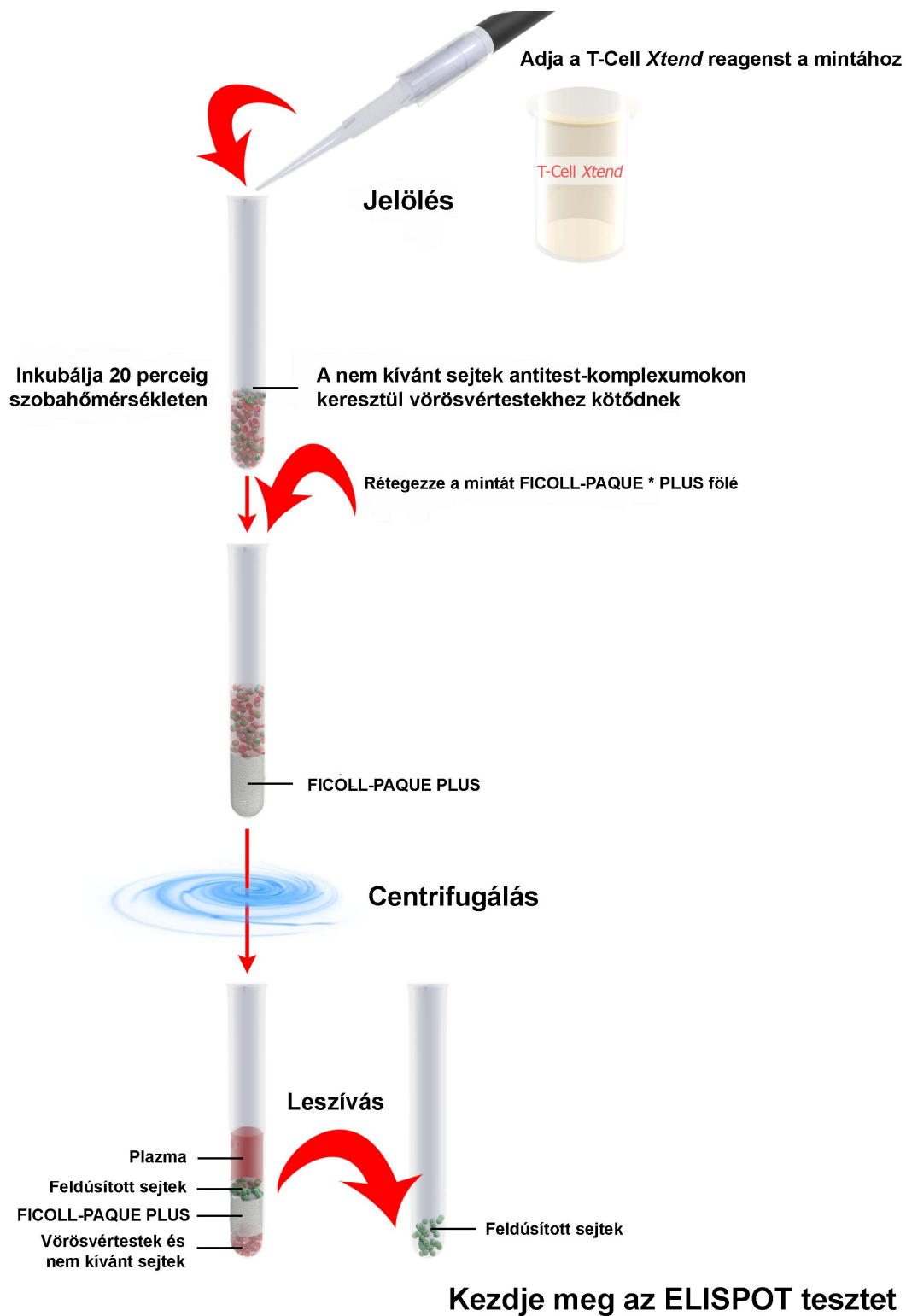
- A vérminták gyűjtése lítium-heparinos vérvételi csövekbe történik, ezt követően a PBMC-eket standard elválasztási eljárásokkal, például FICOLL sűrűséggradiens segítségével izolálják. A PBMC-frakció tisztításához egyéb módszerek is választhatók, például FICOLL oldattal előre betöltött Accuspin vagy Leucosep csövek használata.
- Szükség esetén egy betegről származó sejtek összeönthetők, hogy a több csőben, párhuzamosan gyűjtött és feldolgozott vérből elegendő számú sejtet lehessen nyerni.

Tipikus esetben, immunkompetens betegnél a teszt elvégzéséhez elegendő PBMC nyerhető a vénásvér-mintákból a következő irányelvek szerint:

- Felnöttek és 2 évesnél idősebb gyermekek: egy db 6 ml-es lítium-heparinos cső
- Gyermekek 2 éves korig: egy db 2 ml-es gyermek vérvételi cső

Reagenskészítés

A T-Cell *Xtend* reagens használatra készen kerül kiszerezésre. Reagenskészítésre nincs szükség.



1. ábra: Vázlat annak bemutatására, hogyan illeszhető be a T-Cell Xtend reagens a tárolt/szállított teljes vérrel végzett ELISPOT-protokollba, a vénapunkció után legfeljebb 32 órával való felhasználáshoz.

Korlátozások

1. A T-Cell *Xtend* reagens diagnosztikai segédeszköz. A teszt eredményeit az alkalmazott diagnosztikai teszt eredményeivel együttesen kell értelmezni.

Minőségellenőrzés

A T-Cell *Xtend* reagens házon belüli tesztelése nem mutatott szignifikáns csökkenést a PBMC-hozamban vagy a T-sejtpopulációkban a vénapunkció után 8 óránál rövidebb ideig tárolt teljesvér-minták és a legfeljebb 32 óra hosszát tárolt, T-Cell *Xtend* reagenssel kezelt teljesvér-minták összehasonlításakor. Az egyes laboratóriumok minőségellenőrzési tevékenysége részeként sejtszámláló módszereket kell tervezni és validálni a tesztrendszerhez elegendő mennyiségű PBMC gyűjtésének biztosítására. Emellett a minőségellenőrzésben pozitív és negatív kontrollokat is alkalmazni kell, amelyeket a T-sejtek várt teljesítményének biztosítására fejlesztettek ki a releváns tesztrendszerben.

Teljesítmény-jellemzők

Klinikai vizsgálatokat folytattak teljesvér-mintáknak vénapunkciót követő 32 órán belüli, a T-Cell *Xtend* reagens sejtelkülönítés előtti hozzáadásával és anélkül végzett ELISPOT-teszttel (T-SPOT[®].TB teszt) történő végrehajtására vonatkozóan.

A T-Cell *Xtend* reagens hozzáadásával és anélkül végzett klinikai vizsgálatok (3 helyen) T-SPOT.TB teszteredményeinek általános megegyezése 96,6% (340/352) volt [95% CI 94,1-98,2%]










Hibaelhárítási útmutató ELISPOT céljára történő PBMC-preparáláshoz

| Probléma | Lehetséges ok | Lehetséges megoldás |
|--|---|---|
| Alacsony sejthozam | <p>Leukopenia</p> <p>Helytelen vérvétel</p> <p>A vérvételi cső nem szobahőmérsékletű (18-25 °C)</p> <p>A vér tárolási hőmérséklete nem 10-25 °C</p> <p>A vért a javasolt tárolási időn túl tárolták</p> | <p>Használja fel még egy vérvételi cső tartalmát</p> <p>Ne használjon sejtpreparáló csöveket (CPT, Becton Dickinson) vagy EDTA véralvadásgátlót tartalmazó vérvételi csöveket</p> <p>A mintavétel előtt várja meg, amíg a vérvételi cső szobahőmérsékletre melegszik</p> <p>Ellenőrizze, hogy a vérszállítmány 10-25 °C hőmérsékleten van</p> <p>Gyűjtsön másik vérmintát, és ismételje meg a tesztet</p> |
| Vörösvértest-szennyeződés | <p>A vérvételi cső nem szobahőmérsékletű (18-25 °C)</p> <p>Helytelen centrifugálás</p> | <p>A mintavétel előtt várja meg, amíg a vérvételi cső szobahőmérsékletre melegszik</p> <p>A centrifugálás idejét növelje 30 percre</p> <p>Ellenőrizze, hogy a centrifuga hűtve van-e</p> <p>Ellenőrizze, hogy a centrifuga fékje működőképes-e, és biztosítsa, hogy ezek a lépések a gyártónak a FICOLL-gradiensén való elválasztásra vonatkozó utasításai szerint történjenek.</p> |
| Nincs elkülönülő vagy jól kivehető mononukleáris sejtréteg | <p>A centrifuga kalibrációja hibás</p> <p>A centrifuga sebessége túl alacsony</p> <p>A centrifugálás ideje túl rövid</p> <p>Hiperlipémiás minta</p> | <p>Kalibráltassa a centrifugát</p> <p>Növelje a centrifuga sebességét 1500-1800 g-re</p> <p>Növelje a centrifugálás időtartamát 30 percre</p> <p>Éhgyomri vérvétel</p> |
| Érvénytelen eredmények | A mintakezelés számos hibája okozhat érvénytelen eredményeket | Lásd fent |

Irodalmi hivatkozások

1. NCCLs procedure H3 – A5, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venepuncture (Diagnosztikai vérminták levételi eljárásai vénapunkció útján)

Jelmagyarázat

| | |
|---|--|
|  | ... előtt felhasználandó / Lejárati idő (év-hónap-nap) |
|  | Gyártási tétel száma |
|  | Katalógusszám |
|  | Figyelem, lásd a használati utasítást |
|  | Gyártó |
|  | „n” vizsgálat elvégzéséhez elegendő |
|  | <i>In vitro</i> diagnosztikai eszköz |
|  | Hőmérsékleti korlátozás / ...-... °C között tárolandó |
|  | Nézze meg a használati utasításban |

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

A CPT a Becton Dickinson védjegye

* A FICOLL és a FICOLL-PAQUE a GE Companies védjegye

Az Accuspin a Sigma-Aldrich védjegye

A T-Cell *Xtend* reagens használatát a következő szabadalmak és bejelentett szabadalmak védik:
WO 2008/041004

© Oxford Immunotec Limited, 2010. Minden jog fenntartva.

Gyártó:

Oxford Immunotec Ltd

94C Milton Park, Abingdon

Oxfordshire, OX14 4RY, Egyesült Királyság

+44(0)1235 442796

www.oxfordimmunotec.com



Oxford Immunotec Ltd.
94C Milton Park, Abingdon,
Oxfordshire, OX14 4RY, UK.
Tel: +44 (0)1235 442790
Fax: +44 (0)1235 442781
Email: info@oxfordimmunotec.com
www.oxfordimmunotec.com

