

# T-Cell Select™



За използване при приготвянето на пречистени мононуклеарни имунни клетки  
директно от цяла кръв

## ЛИСТОВКА

За *In Vitro* диагностика

В тази листовка е описана употребата на:  
T-Cell *Select* (Каталожен номер: TSK.910)

## Предназначение

Комплектът с реактиви T-Cell *Select*<sup>™</sup> е предназначен за изолиране на моноклеарни имунни клетки от цяла кръв, с помощта на положителна селекция чрез система за разделяне на клетки на базата на магнитни топчета, за употреба в клетъчно-медиирани имунни анализи.

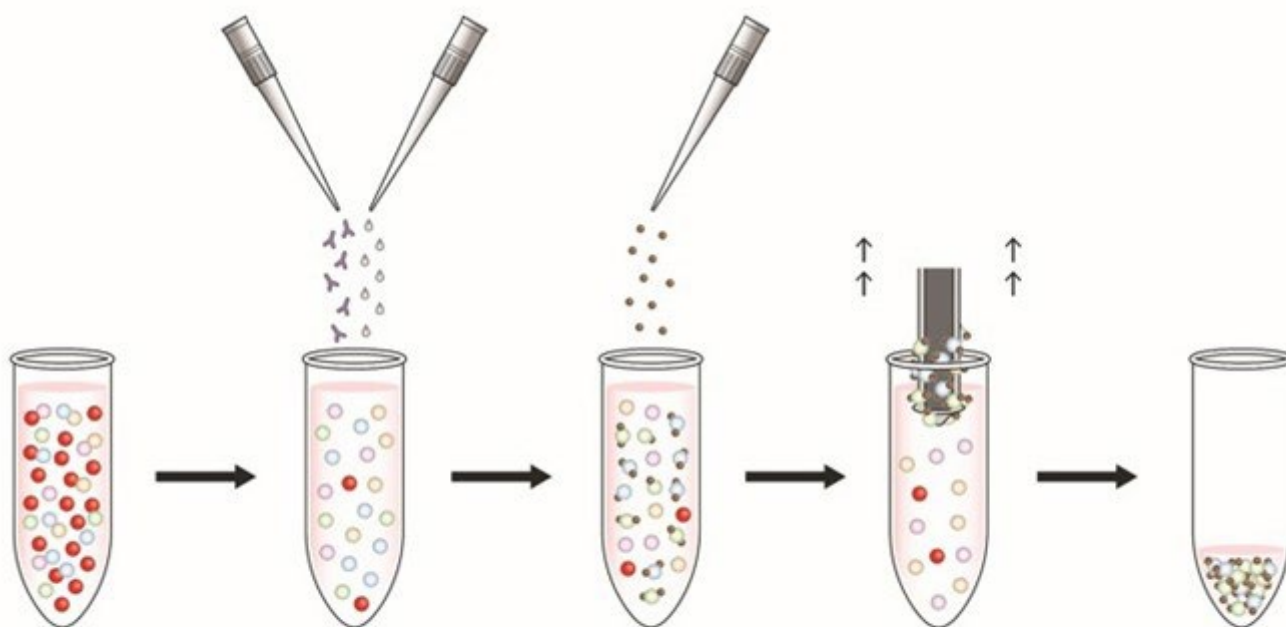
## Въведение

За клетъчно-медиирани имунни анализи, като ензимно-свързани имуноспот (ELISPOT) анализи, периферните кръвни моноклеарни клетки (ПКМК) обикновено се изолират, като се използват методи за центрофугиране с градиент на плътност. Комплектът с реактиви T-Cell *Select* позволява ПКМК да бъдат изолирани чрез положителна селекция на моноклеарни имунни клетки със система за разделяне на клетки, базирана на магнитни перли. Използването на системи за магнитно разделяне позволява автоматизиране на процеса на изолиране на клетките, което значително намалява времето за работа, необходимо за подготовка на пробата.

Клетки, изолирани от кръв, съхранявани до 54 часа с помощта на комплекта с реактиви T-Cell *Select* дават резултати, еквивалентни на тези, изолирани чрез центрофугиране с градиент на плътност и реактив T-Cell *Xtend*<sup>®</sup>, както е оценено в теста T-SPOT<sup>®</sup>.TB.

## Принцип на метода

Използването на комплекта с реактиви T-Cell *Select* подобрява логистиката и работния процес при подготовката на ПКМК за използване в анализи ELISPOT. Комплектът съдържа патентован набор от реактиви, състоящ се от буферен концентрат, антитела и суперпарамагнитни перли. Разреден T-Cell *Select* буфер се добавя към пробата цяла кръв, за да се улесни пречистването на клетките и да се намали контаминацията с червени кръвни клетки, след което се добавят антитела, които се свързват с необходимите имунни клетки в пробата. Добавянето на суперпарамагнитни перли, води до образуване на комплекси с антителата, прикрепени към имунните клетки. Магнитните свойства на перлитета се използват с помощта на подходяща, валидирана система за магнитно разделяне, за да се изолират ПКМК от пробата за последваща употреба в анализа ELISPOT. Лабораториите трябва да валидират метода на положителна селекция на свое собствено специфично оборудване, включително подходящи кръвни обеми и брой цикли, в които пробите са изложени на магнита.



## Предупреждения и предпазни мерки

1. Само за *in vitro* диагностика.
2. Само за употреба от специалисти; операторите трябва да бъдат обучени в тази процедура.
3. Кръвните проби трябва да се считат за потенциално опасни. При работата с материали от човешки произход се изисква особено внимание.
4. Обработката на пробите от цяла кръв и отделните реактиви от комплекта по време на употреба, съхранение и унищожаване трябва да бъдат в съответствие с процедурите, определени в съответните национални насоки или нормативни актове по безопасността на биологичните продукти.
5. Всяко отклонение от препоръчаните процедури за пипетиране, техники за промиване, време за инкубиране и/или температура може да повлияе на резултатите от теста.
6. Не вземайте кръв във епруветки с ЕДТА.
7. Не съхранявайте в хладилник и не замразявайте проби от цяла кръв. Съхранявайте и транспортирайте кръвните проби до лабораторията между 18 и 25 °C.
8. Не разреждайте и не добавяйте други компоненти директно към реактивите T-Cell *Select* извън инструкциите в тази листовка.
9. Валидирайте всяко лабораторно оборудване чрез протокола на лабораторията, преди да използвате комплекта с реактиви T-Cell *Select*.
10. Използвайте само контейнери за еднократна употреба за вземане на проби от венозна кръв.
11. Не смесвайте различни реактиви от различни партиди в една проба от пациент.
12. Не използвайте след срока на годност.
13. Не използвайте с проба от цяла кръв, която е била съхранявана повече от 54 часа.
14. При употребата на този продукт използвайте асептични техники.
15. Не използвайте, ако флаконите изглеждат повредени или вече са отворени.
16. Не използвайте, ако течността във флаконите изглежда обезцветена или има утайка.
17. Антитяло 1 и Антитяло 2 съдържат вещества от животински произход, които са потенциално инфекциозни. При нормални условия на употреба тези вещества не влизат в контакт с потребителя.

## Приложени материали

Всяка кутия съдържа:

144 теста за комплект\*

Реактив	Количество
Буферен Концентрат (BU.910)	1 x 50 mL
Антитяло 1 (AC.910)	3 x 2 mL
Антитяло 2 (AH.910)	3 x 2 mL
Реактив с перли (BR.910)	1 x 10 mL

\*моля, вижте раздела Ограничения за важна забележка относно количеството тестове в комплекта

## Съхранение и стабилност

Съхранявайте неотворените комплекти T-Cell *Select* при 2 до 8 °C до срока на годност, посочен на кутията. Съхранявайте отворените и повторно запечатани флакони с реактиви T-Cell *Select* при 2 до 8 °C и използвайте в рамките на 4 седмици след отваряне, освен ако този период не надвишава срока на годност върху кутията. Да не се смесват елементи от различни партиди комплекти.

## Необходимо оборудване и материали, недоставени

1. Епруветки за взимане на кръв; препоръчва се използването на литиеви или натриеви хепаринизирани епруветки или епруветки с натриев цитрат.
2. Дестилирана или дейонизирана вода.
3. Стерилна среда за клетъчна култура без серум, като Gibco® AIM-V® Medium.
4. RPMI 1640 Medium.
5. Подходящото оборудване за пречистване на магнитни частици трябва да бъде валидирано от лабораторията за употреба, като например:
  - Инструмент с потопена магнитна бъркалка, съвместим за използване с микроплака с дълбоки ямки
  - Магнитен блок с кухня за епруветка
  - Магнитна основа за плоча, съвместима с микроплака с дълбоки ямки

6. Епруветки или контейнери, съвместими със системата за магнитно разделяне на лабораторията.
7. Пипети и стерилни пипетни връхчета.
8. Таймер.
9. Шкаф за биобезопасност ниво 2 (BL 2) (препоръчително)

## Процедура

Индивидуалните лаборатории трябва да валидират своите процедури за събиране и разделяне на моноклеарни имунни клетки, за да получат достатъчен брой. Тази процедура демонстрира метода на изолиране с *T-Cell Select* при използването му с лабораторно валидирано оборудване. Обемът на кръвта за проба трябва да бъде валидиран с използваното оборудване. Стъпки 11, 12 и 16 (и всички допълнителни цикли на магнитна експозиция) могат да бъдат оптимизирани за използваната магнитна система в рамките на предоставените времена за работа. Валидирането трябва да гарантира, че са изолирани подходящи количества ПКМК за използване в необходимия ELISPOT анализ.

Забележка: Следните стъпки трябва да бъдат извършени с използване на принципите на Добрата лабораторна практика. Уверете се, че всички реактиви са на стайна температура преди употреба.

1. Разбъркайте старателно кръвната проба.
2. Прехвърлете част от кръвта в контейнер, съвместим със системата за магнитно разделяне на вашата лаборатория. Обикновено за всяка проба се използват 3,5-5 mL кръв, за да се получи достатъчен брой клетки за използване в ELISPOT процедурите.
3. Разреждете *T-Cell Select Buffer Concentrate* в дестилирана или дейонизирана вода в съотношение 2:3, буферен концентрат: дестилирана или дейонизирана вода.
4. Добавете разреден *T-Cell Select* буфер към цяла кръв в съотношение 1:7, буфер: кръв.
5. Добавете 10 µL Антитяло 1 на mL от комбинирания обем цяла кръв и буфер.
6. Добавете 10 µL Антитяло 2 на mL от комбинирания обем цяла кръв и буфер.
7. Разбъркайте старателно пробата.
8. Инкубирайте пробата за 15 минути при стайна температура.
9. Непосредствено преди употреба разбъркайте добре реактива с перли. Добавете 15 µL от реактива с перли на mL от комбинирания обем цяла кръв и буфер.
10. Разбъркайте внимателно пробата.
11. Инкубирайте пробата за 15 минути при стайна температура, разбърквайки на поне всеки 5 минути.
12. Експонирайте пробата на подходящ магнит за минимум 10 минути (Забележка: времето за инкубация трябва да се валидира в зависимост от използваната магнитна система). Маркираните с антитела клетки ще се придвижат към магнита.
13. Изхвърлете супернатанта в съответствие с вашата лабораторна процедура, като внимавате да запазите перлите с прикрепени клетки, които са се придвижили към магнита.
14. Отстранете пробата от магнитното поле.
15. Добавете количество RPMI, равно на първоначалния обем цяла кръв и разреден *T Cell Select* буфер към останалите клетки. Разбъркайте, за да ресуспендирате пробата.
16. Експонирайте пробата на подходящ магнит за минимум 10 минути (Забележка: времето за инкубация трябва да се валидира в зависимост от използваната магнитна система). Маркираните с антитела клетки ще се придвижат към магнита.
17. Изхвърлете супернатанта в съответствие с вашата лабораторна процедура, като внимавате да запазите топчетата с прикрепени клетки, които са се придвижили към магнита.
18. Отстранете пробата от магнитното поле.
19. Внимателно ресуспендирайте пробата в среда AIM-V, за да постигнете крайна клетъчна концентрация от поне  $2,5 \times 10^6$ /mL. Пробата е готова за преброяване на клетките и използване в ELISPOT процедури (Забележка: пробата може да бъде изложена на магнит за допълнителни цикли преди добавянето на AIM-V среда, ако се използват повече цикли, валидирани с магнитната система).

Забележка: Индивидуалните лаборатории трябва да валидират своите процедури за събиране и разделяне на моноклеарни имунни клетки, за да получат достатъчен брой клетки. Лабораториите трябва да валидират своите системи за магнитно разделяне и всяко друго оборудване, използвано в процедурата за изолиране на клетки. Препоръчва се:

- Ако е необходимо, клетките на пациента могат да бъдат събрани заедно, за да се получат достатъчно клетки от няколко епруветки с кръв, които са били събрани и обработени в рамките на 54 часа.
- Обикновено за имунокомпетентни възрастни и деца на възраст над 2 години, достатъчно клетки за провеждане на процедури за клетъчно-медиран имуноанализ могат да бъдат получени от проба от 3,5 mL цяла кръв.

За деца до 2 години трябва да се използва един педиатрична епруетка от 2 ml.

## Ограничения

1. Въпреки че комплектите с реактиви T-Cell *Select* са указани за 144 теста, броят тестове, които всяка лаборатория може да извърши с всеки комплект, ще се различава. Множество променливи влияят на количеството реактиви, които ще са необходими и по този начин на броя на тестовете, поддържани от всеки комплект. Такива променливи могат да включват използваното лабораторно оборудване, начален обем кръв и брой цикли, на които пробите са изложени на магнита.
2. Комплектът с реактиви T-Cell *Select* е предназначен за използване при изолиране на мононуклеарни клетки от цяла кръв за използване в процедури за клетъчно-медиран имуноанализ. Сам по себе си не е диагностичен тест. Резултатите от теста трябва да се интерпретират заедно с резултатите от използвания диагностичен анализ.

## Контрол на качеството

- При проведено вътрешно изследване не се наблюдава значителна разлика в популациите на мононуклеарни имунни клетки, получени от цяла кръв с помощта на комплекта с реактиви T-Cell *Select* в сравнение с методите за разделяне с градиент на плътност.
- В рамките на контрола на качеството на отделните лаборатории трябва да се разработят и валидират методи за магнитно разделяне и броене на клетки, за да се гарантира, че могат да се получат достатъчно мононуклеарни имунни клетки за съответния диагностичен анализ.
- Трябва да се включат съответните положителни и отрицателни контроли, за да се гарантира, че мононуклеарните клетки, получени чрез магнитно разделяне, дават очакваните резултати в диагностичния анализ.

## Характеристики на ефективността

Бяха проведени клинични проучвания, за да се демонстрира ефективността на теста T-SPOT.TB, като се използват клетки, изолирани с комплекта с реактиви T-Cell *Select* от кръв, съхранявана до 54 часа след венепункция както при висока, така и при ниска ендемична среда. Разделените проби бяха обработени с помощта на комплекта с реактиви T-Cell *Select* (0-54 часа време за съхранение) и центрофугиране с градиент на плътността (0-32 часа време за съхранение).

Общото съвпадение на данните от клиничното проучване между теста T-SPOT.TB, комплекта с реактиви T-Cell *Select* и метода на разделяне с градиент на плътността е 97% (644/664) [95% CI 95,4-98,2%].

Сред малкия брой несъвпадащи резултати между методите беше отбелязано, че редица отрицателни резултати от проби с клетки, изолирани чрез стандартния метод на центрофугиране с плътност, които са били положителни при използване на комплектите с реактиви T-Cell *Select*, впоследствие са се оказали положителни за микробиологично потвърдена TB (n=6).

Това показва, че методът за изолиране на клетки с положителна селекция може да придаде по-добра чувствителност на теста T-SPOT.TB.

## Докладване на сериозни инциденти

Ако е възникнал сериозен инцидент, свързан с това устройство, за него трябва да се съобщи на отдела за връзка с клиенти. В държавите - членки на Европейския съюз, сериозните инциденти трябва да се докладват и на компетентния орган (правителствения отдел, отговарящ за медицинските изделия за *in vitro* диагностика) във вашата страна. Подробна информация за това как да се свържете с компетентния орган можете да намерите на уеб сайта на вашето правителство. "Сериозен инцидент" означава всеки инцидент, който пряко или непряко е довел, би могъл да доведе или може да доведе до:












- смърт на пациент, потребител или друго лице;
- временно или трайно сериозно влошаване на здравословното състояние на пациент, потребител или друго лице;
- сериозна заплаха за общественото здраве.

## Информация за контакти

Oxford Immunotec Ltd  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon  
Oxfordshire, OX14 4SE, Обединено кралство  
Тел.: +44 (0) 1235 442780  
Електронна поща: [info@oxfordimmunotec.com](mailto:info@oxfordimmunotec.com)

За изтегляне на продуктова поддръжка и допълнителна техническа информация, моля, посетете нашия уеб сайт: [www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)


## Речник на символите


	Да се използва до/Годен до (година-месец-ден)
	Партиден номер
	Каталожен номер
	Внимание, вижте инструкциите за употреба
	Производител
	Достатъчно за "n" теста
	<i>In vitro</i> диагностично устройство
	Температурни ограничения/Да се съхранява между
	Вижте инструкциите за употреба
	Да се съхранява далеч от слънчева светлина
	Упълномощен представител на ЕС

T-SPOT, T-Cell *Xtend* и логото на Oxford Immunotec са регистрирани търговски марки на Oxford Immunotec Ltd. T-Cell *Select* е търговска марка на Oxford Immunotec Ltd. AIM-V и GIBCO са регистрирани търговски марки на Life Technologies Corporation.

Употребата на реактив T-Cell *Xtend* и комплектът T-Cell *Select* е защитена от следните патенти: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023, Oxford Immunotec. Всички права запазени.

 Производител:  
Oxford Immunotec Ltd  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon  
Oxfordshire, OX14 4SE, Обединено кралство  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

 Упълномощен представител  
на ЕС: Oxford Immunotec (Ирландия)  
Unit 3d North Point House,  
North Point Business Park,  
New Mallow Road,  
Cork, T23 AT2P  
Република Ирландия

Номер на версията	Дата на издаване	Промени
1-6	Подробности на разположение при поискване в Oxford Immunotec.	
7	Септември 2023	Първи превод на TS-PI-UK-V7



Oxford Immunotec Ltd.  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon, Oxfordshire,  
OX14 4SE, Обединено кралство.  
Тел.: +44 (0)1235 442780  
Факс: +44 (0)1235 442781  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

