

T-Cell Select™



Zur Anwendung bei der Vorbereitung gereinigter mononukleärer Immunzellen direkt aus Vollblut

PACKUNGSBEILAGE

Zur *In-vitro*-Diagnostik

Diese Packungsbeilage enthält Informationen zur Anwendung von:

T-Cell *Select* (Katalognummer: TSK.910)

Verwendungszweck

Das T-Cell *Select*TM-Kit ist für die Isolierung mononukleärer Immunzellen aus Vollblut unter Verwendung von positiver Selektion mittels eines auf magnetischen Beads basierenden Zellseparationssystem für den Gebrauch in zellvermittelten Immuntests vorgesehen.

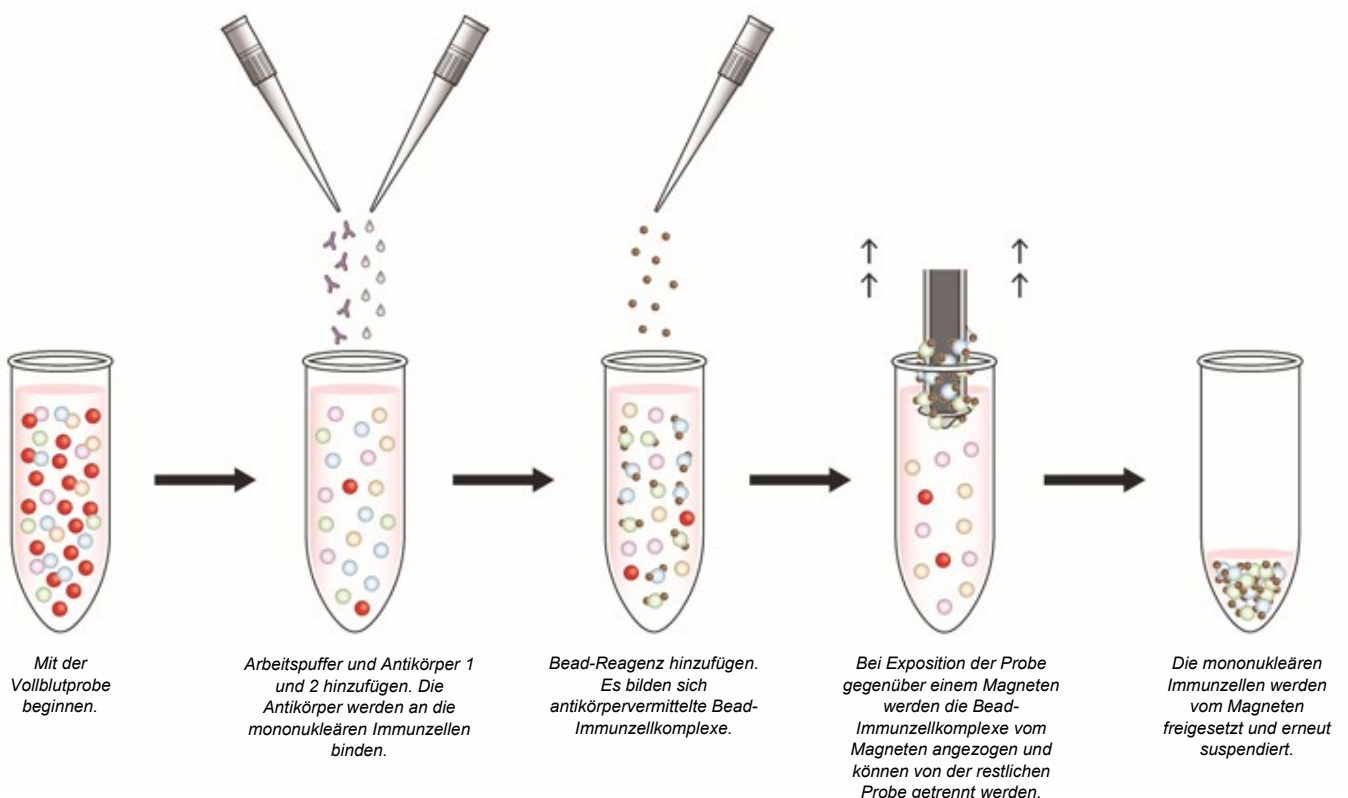
Einleitung

Für zellvermittelte Immunoassays wie beispielsweise ELISPOT (Enzyme Linked Immunospot)-Assays werden periphere mononukleäre Blutzellen (PBMC) in der Regel mittels Dichtegradienten-Zentrifugationsmethoden isoliert. Mit dem T-Cell *Select*-Kit können PBMC-Zellen durch positive Selektion von mononukleären Immunzellen mit einem auf magnetischen Beads basierenden Zellseparationssystem isoliert werden. Die Verwendung magnetischer Separationssysteme ermöglicht die Automatisierung des Zellisierungsprozesses, was den Arbeitsaufwand für die Probenvorbereitung erheblich verkürzt.

Aus Blut isolierte Zellen, die bis zu 54 Stunden lang gelagert wurden, lieferten unter Verwendung des T-Cell *Select*-Kits gleichwertige Ergebnisse wie Zellen, die mittels Dichtegradienten-Zentrifugation und dem T-Cell *Xtend*[®]-Reagenz isoliert wurden, was im T-SPOT[®].*TB*-Test ermittelt wurde.

Funktionsweise

Durch Verwendung des T-Cell *Select*-Kits werden die Logistik und der Arbeitsablauf bei der Vorbereitung von PBMC für ELISPOT-Assays verbessert. Das Kit enthält einen proprietären Satz von Reagenzien, bestehend aus Pufferkonzentrat, Antikörpern und superparamagnetischen Beads. Verdünnter T-Cell *Select*-Puffer wird der Vollblutprobe hinzugefügt, um die Zellreinigung zu erleichtern und eine Verunreinigung der Blutkörperchen zu reduzieren. Anschließend werden Antikörper hinzugefügt, die an die benötigten Immunzellen in der Probe binden. Nach Zugabe von superparamagnetischen Partikeln bilden sich Komplexe mit den an die Immunzellen gebundenen Antikörpern. Die magnetischen Eigenschaften der Beads werden mithilfe eines geeigneten, validierten magnetischen Separationssystem zur Isolierung der PBMC aus der Probe für die nachfolgende Verwendung im ELISPOT-Assay verwendet. Labore müssen die positive Selektionsmethode auf ihren eigenen spezifischen Geräten validieren, einschließlich angemessener Blutvolumina und Anzahl von Zyklen, in denen Proben dem Magneten ausgesetzt sind.



Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *In-vitro*-Diagnostik.
2. Nur von in diesem Verfahren geschulten Fachkräften anzuwenden.
3. Blutproben sind als potenziell gefährlich einzustufen. Beim Umgang mit vom Menschen gewonnenen Proben ist Vorsicht geboten.
4. Die Handhabung von Vollblutproben und Assaybestandteilen sowie deren Verwendung, Lagerung und Entsorgung sollten gemäß den einschlägigen nationalen Sicherheitsrichtlinien und -bestimmungen für biologische Gefahrstoffe erfolgen.
5. Jede Abweichung von den für Pipettierung, Waschtechniken, Inkubationszeiten bzw. -temperaturen empfohlenen Verfahren kann die Testergebnisse beeinflussen.
6. Blut nicht in EDTA-Blutentnahmeröhrchen entnehmen.
7. Vollblutproben nicht im Kühlschrank aufbewahren oder einfrieren. Blutproben müssen zwischen 18 und 25 °C gelagert und zum Labor transportiert werden.
8. Die T-Cell *Select*-Reagenzien dürfen nur in dem in der Packungsbeilage beschriebenen Umfang verdünnt oder mit anderen Komponenten versetzt werden.
9. Alle Laborgeräte vor Gebrauch des T-Cell *Select*-Kits gemäß dem Protokoll des Labors validieren.
10. Für die Entnahme venöser Blutproben nur Einwegbehältnisse verwenden.
11. Reagenzien aus unterschiedlichen Chargen nicht in einer einzelnen Patientenprobe miteinander vermischen.
12. Nicht nach dem Verfallsdatum verwenden.
13. Nicht mit einer Vollblutprobe verwenden, die länger als 54 Stunden gelagert wurde.
14. Bei der Handhabung dieses Produkts steril arbeiten.
15. Nicht verwenden, wenn die Fläschchen beschädigt oder bereits geöffnet zu sein scheinen.
16. Nicht verwenden, wenn die Flüssigkeit in den Fläschchen verfärbt ist oder Ausfällungen aufweist.
17. Antikörper 1 und 2 enthalten Substanzen tierischen Ursprungs, die potenziell infektiös sind. Unter normalen Gebrauchsbedingungen kommen diese Substanzen nicht mit dem Anwender in Berührung.

Lieferumfang

Jede Packung enthält:

144 Testkits*

Reagenz	Menge
Pufferkonzentrat (BU.910)	1 x 50 mL
Antikörper 1 (AC.910)	3 x 2 mL
Antikörper 2 (AH.910)	3 x 2 mL
Bead-Reagenz (BR.910)	1 x 10 mL

*Der Abschnitt „Beschränkungen“ enthält einen wichtigen Hinweis zur Testmenge pro Kit.

Lagerung und Stabilität

Ungeöffnete T-Cell *Select*-Kits bei 2 bis 8 °C bis zu dem auf der Packung angegebenen Verfallsdatum lagern. Geöffnete und wieder versiegelte Fläschchen mit T-Cell *Select*-Reagenzien bei 2 bis 8 °C lagern und nach dem Öffnen innerhalb von 4 Wochen verwenden, sofern das auf der Packung angegebene Verfallsdatum dadurch nicht überschritten wird. Komponenten unterschiedlicher Kitchargen nicht miteinander vermischen.

Erforderliche, nicht im Lieferumfang enthaltene Geräte und Materialien

1. Blutentnahmeröhrchen; zu empfehlen sind Lithium- oder Natrium-Heparin-Röhrchen oder Natriumcitrat-Röhrchen.
2. Destilliertes oder entionisiertes Wasser.
3. Steriles, serumfreies Zellkulturmedium, z. B. Gibco® AIM-V®-Medium.
4. RPMI 1640-Medium.
5. Geeignete Geräte zur Reinigung von Magnetpartikeln sollten vom Labor für den Einsatz validiert werden, z. B.:
 - ein Tauchmagnetkopfgerät zur Verwendung mit einer Deep-Well-Mikroplatte
 - ein Blockmagnet mit Reagenzglasraum
 - ein Plattenmagnetfuß für Deep-Well-Mikroplatten
6. Röhrchen oder Behälter, die mit dem magnetischen Separationssystem des Labors kompatibel sind
7. Pipetten und sterile Pipettenspitzen.
8. Timer.
9. Biologische Sicherheitswerkbank Klasse II (empfohlen).

Verfahren

Die einzelnen Labore müssen ihre Verfahren zur Entnahme und Abtrennung von mononukleären Immunzellen validieren, damit eine ausreichende Anzahl von Zellen gewonnen werden kann. Dieses Verfahren veranschaulicht die Isolierungsmethode von T-Cell *Select* für laborvalidierte Geräte. Das Blutvolumen pro Probe muss mit dem verwendeten Gerät validiert werden. Die Schritte 11, 12 und 16 (und alle weiteren Zyklen der magnetischen Exposition) lassen sich für das verwendete Magnetsystem im Rahmen der angegebenen Zeitvorgaben optimieren. Die Validierung sollte bestätigen, dass angemessene Mengen an PBMCs für den erforderlichen ELISPOT-Assay isoliert werden.

Hinweis:

Die folgenden Schritte sollten gemäß den Prinzipien der Guten Laborpraxis durchgeführt werden.

Vor dem Gebrauch sicherstellen, dass alle Reagenzien Raumtemperatur haben.

1. Blutprobe gut durchmischen.
2. Blut in ein mit dem magnetischen Separationssystem des Labors kompatibles Gefäß aliquotieren. In der Regel werden pro Probe 3,5–5 ml Blut verwendet, um eine ausreichende Anzahl an Zellen für die Verwendung in den ELISPOT-Verfahren zu erhalten.
3. Das T-Cell *Select*-Pufferkonzentrat in destilliertem oder entionisiertem Wasser im Verhältnis 2:3, Pufferkonzentrat:destilliertes oder entionisiertes Wasser, verdünnen.
4. Den verdünnten T-Cell *Select*-Puffer im Verhältnis 1:7, Puffer:Blut, dem Vollblut hinzufügen.
5. 10 µl Antikörper 1 pro ml des kombinierten Volumens aus Vollblut und Puffer hinzufügen.
6. 10 µl Antikörper 2 pro ml des kombinierten Volumens aus Vollblut und Puffer hinzufügen.
7. Probe gründlich vermischen.
8. Probe 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.
9. Das Bead-Reagenz direkt vor Gebrauch gründlich vermischen. 15 µl Bead-Reagenz pro ml des kombinierten Volumens aus Vollblut und Puffer hinzufügen.
10. Probe vorsichtig mischen.
11. Probe 15 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren, dabei mindestens alle 5 Minuten vermischen.
12. Probe mindestens 10 Minuten lang einem geeigneten Magneten aussetzen. (Hinweis: Die Inkubationszeit muss mit dem verwendeten Magnetsystem zusammen validiert werden). Mit Antikörpern markierte Zellen werden sich in Richtung Magnet bewegen.
13. Den Überstand gemäß dem Verfahren des Labors entsorgen und dabei darauf achten, dass die Beads mit den anhaftenden Zellen, die zum Magneten gewandert sind, zurückbleiben.
14. Die Probe aus dem Magnetfeld entfernen.
15. Den verbleibenden Zellen ein dem ursprünglichen Vollblutvolumen entsprechendes Volumen RPMI-Volumen sowie verdünnten T Cell *Select*-Puffer hinzufügen. Vermischen, um die Probe zu resuspendieren.
16. Probe mindestens 10 Minuten lang einem geeigneten Magneten aussetzen. (Hinweis: Die Inkubationszeit muss mit dem verwendeten Magnetsystem zusammen validiert werden). Mit Antikörpern markierte Zellen werden sich in Richtung Magnet bewegen.
17. Den Überstand gemäß dem Verfahren des Labors entsorgen und dabei darauf achten, dass die Beads mit den anhaftenden Zellen, die zum Magneten gewandert sind, zurückbleiben.
18. Die Probe aus dem Magnetfeld entfernen.
19. Die Probe gründlich in AIM-V Medium resuspendieren, um eine endgültige Zellkonzentration von mindestens $2,5 \times 10^6/\text{ml}$ zu erhalten. Die Probe ist bereit für die Zellzählung und Verwendung in ELISPOT-Verfahren. (Hinweis: Die Probe kann dem Magneten vor der Zugabe des AIM-V-Medium für weitere Zyklen ausgesetzt werden, wenn mehr Zyklen mit dem verwendeten Magnetsystem validiert wurden).

Hinweis: Die einzelnen Labore müssen ihre Verfahren in Bezug auf die Entnahme und Trennung mononukleärer Immunzellen validieren, um eine ausreichende Anzahl von Zellen zu erhalten. Labore müssen ihre magnetischen Separationssysteme und sämtliche weitere beim Zellisolierungsverfahren verwendeten Geräte validieren. Es gelten folgende Empfehlungen:

- Falls erforderlich, können die Zellen eines Patienten gepoolt werden, um ausreichend Zellen aus mehreren Röhrchen mit Blut zu erhalten, die innerhalb von 54 Stunden entnommen und verarbeitet wurden.
- Gewöhnlich können bei immunkompetenten Erwachsenen und Kindern über 2 Jahren ausreichend Zellen für ein zellvermitteltes Immunoassay-Verfahren aus 3,5 ml Vollblut gewonnen werden.

Bei Kindern bis zu 2 Jahren sollte ein pädiatrisches 2-ml-Röhrchen verwendet werden.

Beschränkungen

1. Obwohl die T-Cell *Select*-Kits für 144 Tests vorgesehen sind, wird die tatsächliche maximal durchführbare Anzahl von Tests pro Kit von Labor zu Labor unterschiedlich sein. Mehrere Faktoren haben einen Einfluss darauf, wie viel Reagenz benötigt wird, und somit auf die Anzahl von Tests, die mit jedem Kit durchgeführt werden können. Zu diesen Variablen zählen beispielsweise die verwendeten Laborgeräte, das Ausgangsvolumen an Blut sowie die Anzahl der Zyklen, denen die Proben dem Magneten ausgesetzt werden.
2. Das T-Cell *Select*-Kit ist für die Isolierung mononukleärer Immunzellen aus Vollblut für die Verwendung in zellvermittelten Immunoassay-Verfahren vorgesehen. Es ist kein selbstständiger Diagnosetest. Die Testergebnisse sollten zusammen mit den Ergebnissen des verwendeten diagnostischen Assays interpretiert werden.

Qualitätskontrolle

- Bei hausinternen Prüfungen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den mononukleären Immunzellpopulationen, die mithilfe des T-Cell *Select*-Kit aus Vollblut gewonnen wurden, und den Dichtegradienten-Separationsmethoden.
- Im Rahmen der Qualitätskontrollaktivität der einzelnen Labore sollten die magnetische Separation und die Zellzählungsmethoden ausgearbeitet und validiert werden, um sicherzustellen, dass ausreichend mononukleäre Immunzellen für das jeweilige diagnostische Assay gewonnen werden können.
- Es sollten positive und negative Kontrollen eingeschlossen werden, um sicherzustellen, dass die mittels magnetischer Separation präparierten mononukleären Zellen im diagnostischen Assay die erwartete Leistung zeigen.

Leistungsdaten

Die Leistung des T-SPOT.*TB*-Tests wurde in klinischen Studien sowohl in hochendemischem als auch gering endemischem Umfeld untersucht. Dazu wurden mit dem T-Cell *Select*-Kit aus Blut isolierte Zellen verwendet, die bis zu 54 Stunden nach der Venenpunktion Umgebung gelagert wurden. Geteilte Proben wurden mit dem T-Cell *Select*-Kit (0–54 Stunden Lagerungszeit) und mittels Dichtegradienten-Zentrifugation (0–32 Stunden Lagerungszeit) verarbeitet.

Die Gesamtübereinstimmung der Daten dieser klinischen Studie für den T-SPOT.*TB*-Assay zwischen der T-Cell *Select*-Kit-Methode und der Dichtegradienten-Zentrifugationsmethode betrug 97 % (644/664) [95 % KI 95,4–98,2 %].

Unter der geringen Zahl nicht übereinstimmender Ergebnisse zwischen diesen Methoden wurde beobachtet, dass eine Reihe von negativen Ergebnissen aus Proben mit Zellen, die mit der Standard-Dichtezentrifugationsmethode isoliert wurden und die bei Verwendung der T-Cell *Select*-Kits positiv waren, anschließend mikrobiologisch als TB-positive Proben ($n = 6$) bestätigt wurden. Dies legt nahe, dass die Methode der Zellisolierung mittels positiver Selektion die Empfindlichkeit des T-SPOT.*TB*-Assays erhöht.

Meldung ernster Zwischenfälle

Wenn ein ernster Zwischenfall im Zusammenhang mit diesem Produkt aufgetreten ist, sollte er dem Kundendienst gemeldet werden. In den Mitgliedstaaten der Europäischen Union sollten ernste Zwischenfälle auch der zuständigen Behörde Ihres Landes (der für In-vitro-Diagnostika zuständigen Regierungsstelle) gemeldet werden. Auf der Website Ihrer Regierung finden Sie Hinweise darauf, wie Sie sich an Ihre zuständige Behörde wenden können. Als „ernster Zwischenfall“ gilt jeder, der unmittelbar oder mittelbar mit Folgendem in Zusammenhang stand, gestanden haben könnte oder stehen könnte:












- Tod eines Patienten, Bedieners oder einer anderen Person;
- vorübergehende oder dauerhafte ernsthafte Verschlechterung des Gesundheitszustands eines Patienten, Bedieners oder einer anderen Person;
- ernsthafte Gefährdung der öffentlichen Gesundheit.

Kundendienstanschrift

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

Downloads zum Product Support und weitere technische Daten finden Sie auf unserer Website:
www.oxfordimmunotec.com

Erklärung der Symbole


	Verfallsdatum (Jahr-Monat-Tag)
	Chargenbezeichnung
	Artikelnummer/Produktcode
	Achtung, siehe Gebrauchsanweisung
	Hersteller
	Ausreichend für „n“ Tests
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Temperaturbeschränkung/Lagerung bei
	Siehe Gebrauchsanweisung
	Vor Sonnenlicht schützen
	Bevollmächtigter Vertreter in der EU

T-SPOT, T-Cell *Xtend* und das Oxford Immunotec-Logo sind eingetragene Warenzeichen von Oxford Immunotec Ltd.
T-Cell *Select* ist ein Warenzeichen von Oxford Immunotec Ltd.
AIM-V und GIBCO sind eingetragene Warenzeichen der Life Technologies Corporation.

Die Verwendung des T-Cell *Xtend* und T-Cell *Select*-Reagenz ist durch die folgenden Patente geschützt:
EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023, Oxford Immunotec. Alle Rechte vorbehalten.

 **Hersteller:**
Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Vereinigtes Königreich
www.oxfordimmunotec.com

 **Bevollmächtigter Vertreter in der EU:**
Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Republik Irland

Versionsstand	Ausgabedatum	Änderungen
1 – 5	Angaben auf Anfrage von Oxford Immunotec erhältlich.	
6	Juni 2022	Änderung der Herstelleranschrift. Ergänzung des Änderungsprotokolls. Aufnahme von Anweisungen zur Meldung ernster Zwischenfälle Einzelheiten zum Bevollmächtigter Vertreter in der EU und zum EU-Importeur.
7	Oktober 2022	Löschung der Angaben zum EU-Importeur
8	Dezember 2023	Entfernung von "a PerkinElmer company" aus dem logo



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



www.oxfordimmunotec.com

PI-TS-IVD-DE V8