T-Cell *Xtend*®

Oxford Immunotec

За използване при подготовката и изолирането на пречистени лимфоцити, директно от цяла кръв

Листовка към комплекта

За инвитро диагностична употреба

Листовката към комплекта обхваща използването на:

T-Cell *Xtend* (каталожен номер: TTK.610)

Предназначение

Реагентът T-Cell *Xtend* е предназначен за употреба при подготовката на Т-клетките от цяла кръв. Реагентът дава възможност на лабораториите да изолират лимфоцити от цяла кръв до 32 часа след венепункция, преди използването им в комерсиален тест от ELISPOT тип.

Въведение

В общ план, ELISPOT методът е утвърден за обработка на кръвни проби в рамките на 8 часа след взимането на кръвта. Този срок за обработката на кръв може да повлияе на лабораторния персонал и процедурите, чрез ограничаване времето на работния процес за провеждане на теста. Включването на реагента T-Cell *Xtend* в ELISPOT процес, води до по-голяма гъвкавост за лабораторията. Кръвните проби могат да се транспортират и/ или съхраняват една нощ, без да се оказва влияние върху Т-клетъчната функция или изява.

Принцип на метода

Използването на реагента T-Cell *Xtend*, като помощно средство при отделянето на лимфоцити от цяла кръв, подобрява логистиката при обработката на ELISPOT тестове със съхранени проби. Т-клетките, изолирани от цяла кръв и съхранявани през нощта, показват намален отговор при стимулация с антигени в ELISPOT тестовете, но това се дължи предимно на замърсяване на клетъчните популации в слоя на мононуклеарните клетки от периферната кръв (PBMC). Реагентът T-Cell *Xtend* съдържа двойноспецифични моноклонални антитела, които са насочени срещу клетъчни повърхностни маркери върху избрани бели кръвни клетки и върху червени кръвни клетки. Реагентът T-Cell *Xtend* свързва кръстосано избраните бели кръвни клетки с еритроцитите, като по този начин увеличава плътността на избраните клетки. Когато се приложи плътностният градиент по време на FICOLL екстракцията, избраните бели кръвни клетки остават отделени в рамките на слоя от червени кръвни клетки, отделно от слоя PBMC. Неизбраните клетки, в това число Т-клетките и антиген-представящите клетки (макрофаги), се съдържат в слоя на мононуклеарните клетки от периферната кръв (PBMC). Проучвания са показали, че функционалните възможности на Т-клетките, подготвени с използването на реагента T-Cell *Xtend*, след една нощ съхранение на кръвта, са сравними с тези, получени от свежа кръв.

Предупреждения и предпазни мерки

1. Единствено за инвитро диагностична употреба.
2. Единствено за професионална употреба; персоналът трябва да бъде обучен в тази процедура.
3. Кръвните проби се считат за потенциално опасни. При работа с биологични материали е необходимо да се вземат всички необходими предпазни мерки.
4. Обработката на проби от цяла кръв и отделните реактиви от комплекта T-Cell *Xtend* по време на употреба, съхраняването и унищожаването, трябва да бъде в съответствие с процедурите, определени в съответните национални наредби за работа с биологични материали.
5. Всяко отклонение от препоръчваните процедури за пипетиране, техники на измиване, периоди на инкубация и /или температури могат да повлияят резултатите от теста.
6. Да не се взема кръв в епруветки за приготвяне на клетки CPT™ на Becton Dickinson или епруветки EDTA, поради несъвместимост с реагента T-Cell *Xtend*.
7. Да не се съхраняват в хладилник или замразяват проби с цяла кръв. Съхранението и транспортирането на кръвните проби към лабораторията да се извършва между 10-25 °C.
8. Добавете реагента T-Cell *Xtend* към цялата кръв преди обработката на пробата.
9. Да не се разрежда или да не се добавят други компоненти директно към реагента T-Cell *Xtend*.
10. Да се използват единствено контейнери за взимане на венозна кръв за еднократна употреба.
11. Да не се смесват различни партиди при обработване на пробата от един пациент.
12. Да не се използва след изтичане срока на годност.
13. Да не се използва с проба от цяла кръв, която е била съхранявана повече от 32 часа.
14. Да се спазват асептични условия при използването на този продукт.

15. Да не се използва, ако флаконите изглеждат повредени или вече отваряни при първа употреба.
16. Да не се използва, ако течността във флаконите изглежда обезцветена или ако има утайка.
17. T-Cell Xtend съдържа вещества от животински произход, които са потенциално инфекциозни. При нормални условия на употреба тези вещества не влизат в контакт с потребителя.

Материали в комплекта:

Всяка кутия съдържа:
Три на брой 2 mL флакони от T-Cell *Xtend* моноклонални антитела (TT.610).

Съхранение и стабилност

Неотворените флакони от реагента T-Cell *Xtend* да се съхраняват при температура 2-8 °C до изтичане на срока на годност, отбелязан върху опаковката. Съхранявайте започнатите флакони затворени при температура 2-8 °C (като след всяка процедура трябва да бъде презапечатан) и използвайте в рамките на 12 седмици след отварянето, освен ако този срок не надвишава срока на годност отбелязан върху опаковката.

Необходимо оборудване и материали, *недоставени*

1. Хепаринизирани епруветки за взимане на кръв.
2. FICOLL или алтернативни материали за сепарация на мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC), напр. епруветки Accuspin™ и Leucosep.
3. Центрофуга за изолиране на PBMC с възможност за най-малко 1800 RCF (g) и с възможност за поддържане на пробите при стайна температура (18-25 °C), ако се използва плътностни методи за центрофугиране за отделяне на PBMC.
4. Микробиологична камина клас 2 (BL 2) (препоръчително).
5. Пипети и стерилни наконечници.
6 Набор ELISPOT.

Процедура

Забележка: Следващите стъпки трябва да се извършват според принципите на Добрата Лабораторна Практика:

1. Вземете цяла кръв в епруветки с литиев хепарин и съхранявайте до 32 часа при температура 10-25 °C.
2. Непосредствено преди да бъдат използвани пробите в комерсиален тест тип ELISPOT, добавете 25 µL от реагента T-Cell *Xtend* на всеки милилитър цяла кръв, като отстраните капачката на епруветката с кръвта и пипетирате препоръчителния обем от реагента в епруветката.
3. Поставете капачката и внимателно обърнете епруветката 8 до 10 пъти, за осигуряване на пълен контакт с реагента.
4. Инкубирайте цялата кръв с реагента T-Cell *Xtend* в продължение на 20 ±5 минути при стайна температура (18-25 °C).
5. Изолирайте фракцията мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC), като използвате центрофугиране по FICOLL с плътностен градиент или друг алтернативен метод за изолиране на PBMC.
6. Подгответе PBMC за ELISPOT тест, като следвате инструкциите за употреба на производителя на ELISPOT.

Забележка: Отделните лаборатории трябва да валидират своите процедури за взимане и разделяне на PBMC, с цел получаване достатъчен брой клетки. Препоръчва се:

- Кръвните проби да се взимат в епруветки с литиев хепарин, като PBMC последващо се сепарират като се използват стандартните техники за разделяне като FICOLL с плътностен градиент. Алтернативни методи за пречистване на фракцията на PBMC могат да бъдат използвани, ако е необходимо, например Accuspin или Leucosep епруветки предварително подготвени с FICOLL.·

- Клетките на един пациент могат да бъдат събрани заедно, ако е необходимо, за получаване на достатъчен брой клетки от различни епруветки с кръв, които са били взети и обработени едновременно.

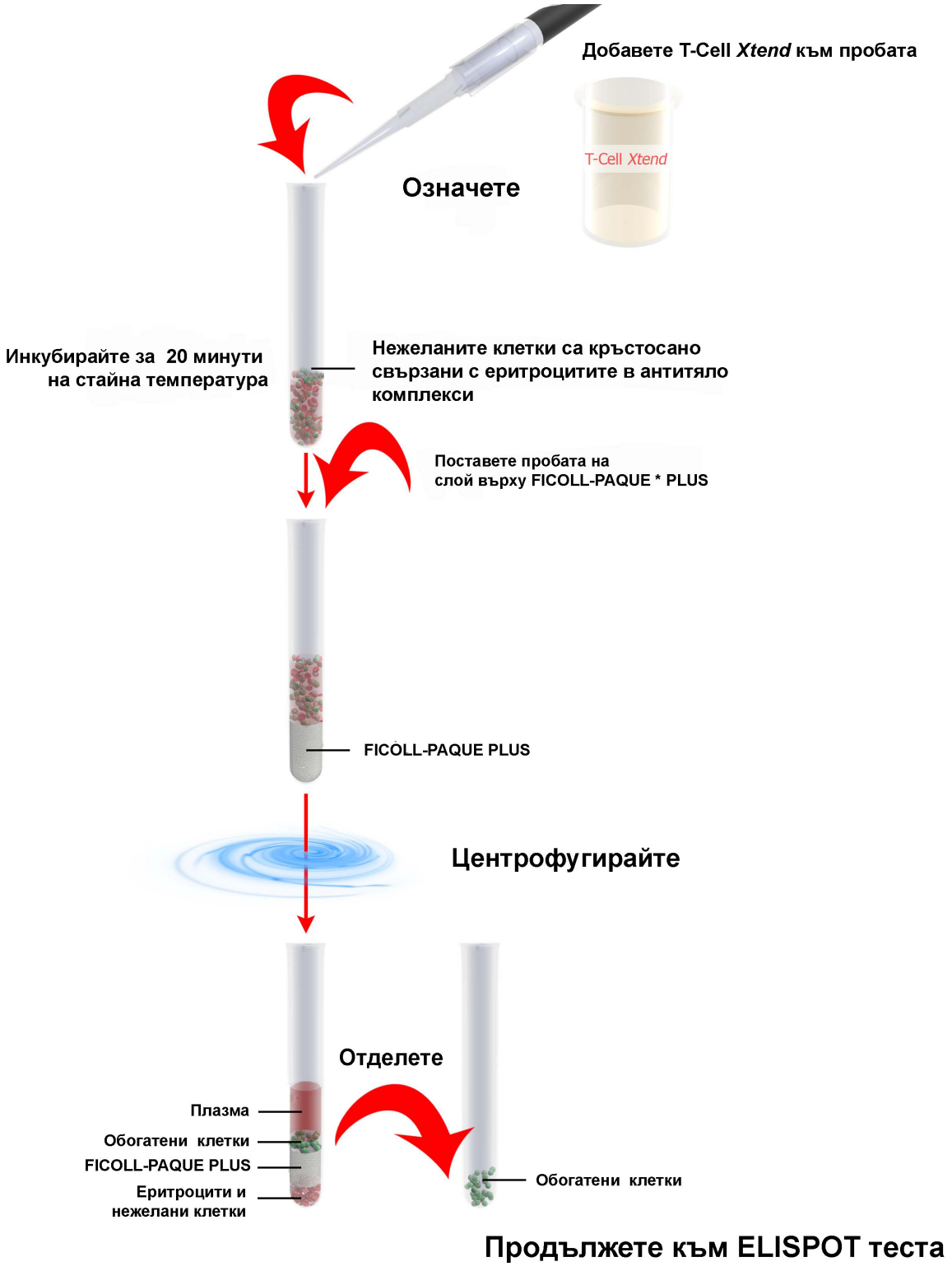
Обикновено, за имунокомпетентни пациенти, достатъчно PBMC, за да се проведе теста, могат да са получени от проби венозна кръв в съответствие със следните насоки:

- Възрастни и деца над 2 години: една 6ml епруветка с литиев хепарин

- Деца до 2 години: една 2ml детска епруветка

Подготовка на реагентите

Реагентът T-Cell *Xtend* се доставя готов за употреба. Не се изисква подготовка на реагента.



Фигура 1: *Диаграма, показваща включването на реагента* T-Cell *Xtend в ELISPOT протокола за използване на съхранявана / транспортирана цяла кръв до 32 часа след вземането й.*

Ограничения

1. Реагентът T-Cell *Xtend* е помощно средство за диагностика. Резултатите от теста трябва да се тълкуват според критериите за резултатите от теста.

Контрол на качеството

При проведено вътрешно изследване на реагента T-Cell Xtend не се наблюдава значително намаляване на получените мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC) или Т-клетъчните популации, при сравняването на проби с цяла кръв, съхранявани за по-малко от 8 часа след венепункция, с проби, съхранявани до 32 часа, обработени с реагента T-Cell *Xtend*. Като част от индивидуалния контрол на качеството на отделните лаборатори, методи за преброяване на клетките трябва да бъдат назначени и валидирани, за да се гарантира, че е получено достатъчно количество PBMC за съответната тестова система. Като допълнение, дейностите по контрол на качеството следва да използват положителните и отрицателните контроли разработени за осигуряване на очакваното представяне на Т-клетките в рамките на съответната тестова система.

Характеристики на ефективността

Клинични проучвания са проведени с и без добавянето на реагента T-Cell *Xtend* преди клетъчната сепарация за обработката на пробите от цяла кръв в тест тип ELISPOT (T-SPOT®.*TB*), съхранявани повече от 32 часа след венепункцията.

Съответствието на данните от клиничното проучване (3 центъра) между теста T-SPOT.*TB* с и без реагента T-Cell *Xtend* е било 96.6 % (340/352) [95 % CI 94.1-98.2 %].

Съобщаване за сериозни инциденти

Ако е възникнал сериозен инцидент, който има връзка с това изделие, за него трябва да се съобщи на отдела за връзка с клиенти. За държавите – членки на Европейския съюз, сериозните инциденти трябва да бъдат съобщени и на компетентния орган (държавното ведомство, което отговаря за медицинските изделия за инвитро диагностика) във вашата държава. Моля, направете справка в уеб сайта на правителството за подробности относно влизането в контакт с компетентния орган. „Сериозен инцидент“ е всеки инцидент, който пряко или непряко е довел, може да е довел или би могъл да доведе до:

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

Информация за контакт с отдела за връзка с клиенти

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

За изтегляне на материали за продуктите и допълнителна техническа информация, моля, посетете нашия уеб сайт:
www.oxfordimmunotec.com

Насоки за отстраняване на проблеми при подготовката на мононуклеарни клетки от периферна кръв (PBMC) за ELISPOT

Проблем	Възможна причина	Възможно решение
Нисък клетъчен добив	Левкопения	Вземете допълнителна епруветка за взимане на кръв
	Неправилно вземане на кръв	Не използвайте CPT или епруветки за взимане на кръв съдържащи антикоагуланта EDTA
	Епруветката за вземане на кръв не е на стайна температура (18-25 °C)	Уверете се, че епруветката е темперирана на стайна температура преди взимане на пробата
	Съхраняването на кръвта не е на 10-25 °C	Уверете се, че транспортирането на кръвта е било извършено на 10-25 °C
	Съхранението на кръвта е над препоръчителното време	Вземете друга проба с кръв, и повторете теста
Контаминиране с еритроцити	Епруветката за взимане на кръв не е на подходяща стайна температура (18-25 °C)	Уверете се, че епруветката е темперирана на стайна температура преди взимане на пробата
	Неправилно центрофугиране	Увеличете времето за центрофугиране до 30 мин Проверете дали центрофугата е охладена Проверете дали центрофугата е с работеща спирачка и се убедете, че тези стъпки са спазени и изпълнени според инструкциите на производителя за сепарация по метода FICOLL
Липсва ясен или разграничен слой мононуклеарни клетки	Центрофугата не е правилно калибрирана	Калибрирайте центрофугата
	Скоростта на центрофугиране е твърде ниска	Увеличете скоростта на центрофугиране на 1500-1800 RCF
	Времето на центрофугиране е твърде кратко	Увеличете времето на центрофугиране до 30 минути
	Хиперлипемична проба	Вземете кръвната проба след диетичен режим (нисколипиден)
Невалидни резулати	Невалидни резултати могат да се получат поради проблеми при обработката на пробите	Обърнете се към по-горните раздели

Библиография

1. NCCLs procedure H3 – A5, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venepuncture

Речник на символите

⌛	Използвайте до изтичане срока на годност (Година-Месец-Ден)
LOT	Партиден номер
REF	Каталожен номер
⚠	Внимание, вижте инструкциите за употреба
🏭	Производител
▽	Достатъчен за „ n”-на брой теста
IVD	Медицинско изделие за инвитро диагностика
🌡	Температурни ограничения/съхранявайте между
📖	Консултирайте се с инструкциите за употреба
EC REP	Упълномощен представител за ЕС

T-SPOT, T-Cell *Xtend* и логото на Oxford Immunotec са търговски марки на Oxford Immunotec Limited.
CPT и Vacutainer са търговски марки на Becton, Dickinson and Company.
Ficoll и Ficoll-Paque са регистрирани търговски марки на Cytiva, поделение на Global Life Sciences Solutions USA LLC.
Accuspin е търговска марка на Sigma-Aldrich.

Употребата на реагента T-Cell *Xtend* е защитена от следните патентии патенти в процес на регистрация:
EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023, Oxford Immunotec Limited. Всички права запазени.

Производител:
Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon Oxfordshire,
OX14 4SE, Обединено кралство
www.oxfordimmunotec.com

EC REP Упълномощен представител за Европейския съюз:
Oxford Immunotec (Ирландия)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Република Ирландия

Преработка номер	**Дата на издаване**	**Изменения**
1 - 6	Подробности се предоставят при поискване от Oxford Immunotec.	
7	Юни 2022 г.	Промяна в адреса на производителя. Добавяне на хронология на преработките. Добавяне на инструкции за съобщаване на сериозни инциденти. Добавяне на данни за упълномощен представител за Европейския съюз и вносител в Европейския съюз
8	октомври 2022 г.	Премахване на данните за вносителя в Европейския съюз
9	Ноември 2023 г.	Премахване на "компания PerkinElmer" от логото