

Pro použití při přípravě a izolaci purifikovaných lymfocytů
z plné krve

PŘÍBALOVÁ INFORMACE

Pro diagnostické použití *in vitro*

Tato příbalová informace se vztahuje na použití:

T-Cell Xtend (katalogové číslo: TTK.610)

Použití

Činidlo T-Cell *Xtend* je určeno k použití při přípravě purifikovaných T buněk z plné krve. Činidlo laboratořím umožňuje izolaci lymfocytů z plné krve pro analýzu komerční metodou ELISPOT v době až 32 hodin po venepunkci.

Úvod

Techniky ELISPOT jsou obecně validovány pro zpracování vzorků krve během 8 hodin po venepunkci. Toto časové rozmezí pro manipulaci s krví může mít omezující vliv na postup práce při provádění testu laboranty. Zahnutí činidla T-Cell *Xtend* do procesu ELISPOT vede ke zvýšené flexibilitě laboratoře. Vzorky krve je možno přepravovat a/nebo skladovat přes noc, aniž by to mělo vliv na funkci nebo výkon T buněk.

Princip metody

Použití činidla T-Cell *Xtend*, jako pomůcky při separaci lymfocytů z plné krve, zlepšuje logistiku provádění testu ELISPOT u skladovaných vzorků. T buňky izolované z krve skladované přes noc vykazují v testu ELISPOT sníženou odpověď na stimulaci antigeny, ale to je způsobeno hlavně kontaminací buněčných populací ve vrstvě periferních krevních mononukleárních buněk (PBMC). Činidlo T-Cell *Xtend* obsahuje bispecifické monoklonální protilátky, které jsou zaměřené proti markerům na povrchu buněk vybraných leukocytů a erytrocytů. Činidlo T-Cell *Xtend* navzájem spojuje vybrané leukocyty s erytrocyty, což zvyšuje hustotu zvolených buněk. Použije-li se hustotní gradient v průběhu extrakce FICOLL, zůstávají označené leukocyty separovány ve vrstvě erytrocytů, odděleně od vrstvy PBMC. Neoznačené buňky, včetně T buněk a buněk prezentujících antigen jsou obsaženy ve vrstvě PBMC. Studie prokázaly, že funkčnost T buněk připravených s použitím činidla T-Cell *Xtend* po skladování krve přes noc je srovnatelná s buňkami získanými z čerstvé krve.

Varování a bezpečnostní opatření

1. Pouze k použití při diagnostice *in vitro*.
2. Pouze k použití odbornými pracovníky; provádějící pracovník musí být proškolen v této metodě.
3. Vzorky krve je nutno považovat za potenciálně nebezpečné. Při manipulaci s materiálem lidského původu je nutno dbát opatrnosti.
4. Manipulace se vzorky plné krve a součástmi testu během jejich používání, skladování a likvidaci musí být v souladu s postupy stanovenými v příslušných národních předpisech a nařízeních týkajících se ochrany před biologickým nebezpečím.
5. Jakékoli odchylky od doporučených postupů při pipetování, technikách promývání, době či teplotě inkubace mohou ovlivnit výsledky testů.
6. Neodebírejte krev do zkumavek pro přípravu buněk (CPT™, Becton Dickinson) ani do zkumavek na odběr krve s EDTA, protože nejsou kompatibilní s činidlem T-Cell *Xtend*.
7. Vzorky plné krve neuchovávejte v chladničce, ani je nezmrazujte. Vzorky krve uchovávejte a přepravujte do laboratoře při teplotě od 10 do 25 °C.
8. Přidejte činidlo T-Cell *Xtend* k plné krvi před zpracováním vzorku.
9. Činidlo T-Cell *Xtend* neředte, ani k němu nepřidávejte další složky.
10. Používejte pouze v jednorázových nádobkách pro odběr vzorků venózní krve.
11. V jednom vzorku pacienta nepoužívejte společně různé šarže.
12. Nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.
13. Nepoužívejte se vzorky plné krve skladovanými déle než 32 hodin.
14. Při používání tohoto produktu používejte aseptický postup.
15. Zdájí-li se lahvičky poškozené nebo již otevřené, nepoužívejte je.
16. Je-li barva tekutiny v lahvičkách změněná nebo obsahuje-li precipitáty, nepoužívejte je.
17. Činidlo T-Cell *Xtend* obsahuje látky živočišného původu, které jsou potenciálně infekční. Za normálních podmínek použití tyto látky nepřicházejí do styku s uživatelem.

Dodávaný materiál

Každá krabička obsahuje:

Tři (3) 2 mL lahvičky monoklonálních protilátek T-Cell *Xtend* (TT.610).

Uchovávání a stabilita

Neotevřené lahvičky činidla T-Cell *Xtend* skladujte při teplotě 2–8 °C po dobu použitelnosti uvedené na krabici. Otevřené a znovu uzavřené lahvičky skladujte při teplotě 2–8 °C a použijte během 12 týdnů po otevření, pokud tato doba nepřesahuje dobu použitelnosti na krabici.

Potřebné vybavení a materiály, které nejsou součástí dodávky

1. Heparinizované zkumavky na odběr krve.
2. FICOLL nebo alternativní separační materiály pro PBMC, tj. zkumavky Accuspin™ a Leucosep.
3. Centrifuga pro izolaci PBMC s výkonem alespoň 1800 RCF (g), ve které při použití hustotních centrifugačních metod separace PBMC mohou být vzorky zpracovány při pokojové teplotě (18–25 °C).
4. Skříň úrovně biologické bezpečnosti 2 (BL 2) (doporučena).
5. Pipety a sterilní špičky na pipety.
6. Souprava ELISPOT.

Postup

Poznámka: Následující kroky je nutno provádět s uplatněním zásad správné laboratorní praxe:

1. Odeberte plnou krev do zkumavek na odběr krve s heparinem lithným a skladujte ji po dobu až 32 hodin při teplotě 10–25 °C.
2. Bezprostředně před použitím v komerčním testu ELISPOT přidejte 25 µL činidla T-Cell *Xtend* na jeden mL plné krve po sejmutí uzávěru odběrové zkumavky pipetováním do doporučeného objemu.
3. Uzávěr znovu nasadte a zkumavku na odběr krve 8 až 10krát opatrně převratte.
4. Plnou krev inkubujte s činidlem T-Cell *Xtend* po dobu 20 ± 5 minut při pokojové teplotě (18–25 °C).
5. Izolujte frakci PBMC pomocí centrifugace v hustotním gradientu přípravkem FICOLL nebo alternativní metodou izolace PBMC.
6. Připravte PBMC pro test ELISPOT podle návodu k použití výrobce soupravy ELISPOT.

Poznámka: Jednotlivé laboratoře musí své postupy pro odběr a separaci PBMC validovat pro získání dostatečného počtu buněk. Doporučuje se:

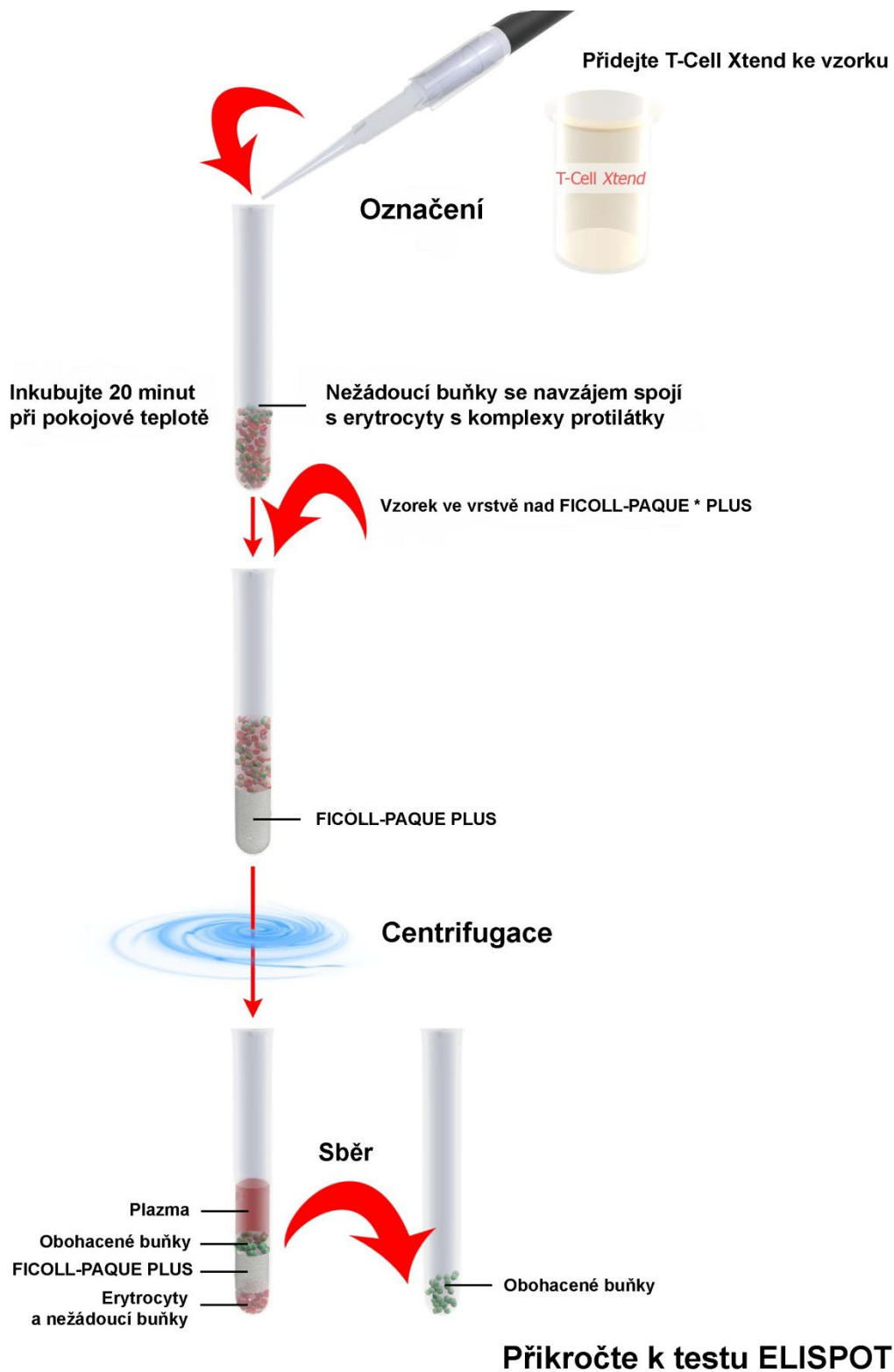
- Odebrat vzorky krve do zkumavek na odběr krve s heparinem lithným a následně separovat PBMC pomocí standardních separačních technik, jako je např. hustotní gradient FICOLL. K purifikaci frakce PBMC lze podle potřeby použít alternativní metody, např. zkumavky Accuspin nebo Leucosep předem naplněné přípravkem FICOLL.
- Buňky pacienta mohou být podle potřeby poolovány, aby se získalo dostatek buněk z několika zkumavek se současně odebranou a zpracovanou krví.

U imunokompetentního pacienta obvykle stačí k provedení testu množství PBMC získané z venózních vzorků krve podle následujících pokynů:

- Dospělí a děti starší 2 let: jedna 6 mL zkumavka s heparinem lithným
- Děti do 2 let věku: jedna 2 mL pediatrická zkumavka

Příprava činidla

Činidlo T-Cell Xtend se dodává připraveno k použití. Není nutná žádná příprava činidla.



Obrázek 1: Schéma ukazuje, jak má být činidlo T-Cell Xtend začleněno do protokolu ELISPOT pro použití se skladovanou/ přepravovanou plnou krví až do doby 32 hodin po venepunkci.

Omezení

1. Činidlo T-Cell *Xtend* je diagnostická pomůcka. Výsledky testu je nutno interpretovat společně s výsledky použitého diagnostického testu.

Kontrola kvality

Interní zkoušky činidla T-Cell *Xtend* neprokázaly žádný významný pokles získaných populací PBMC či T buněk při srovnání vzorků plné krve skladovaných po dobu kratší než 8 hodin po venepunkci se vzorky plné krve skladovanými po dobu až 32 hodin a ošetřenými činidlem T-Cell *Xtend*. Metody počítání buněk by měly být navrženy a validovány jako součást kontroly kvality jednotlivých laboratoří, aby bylo zajištěno, že bylo získáno dostatek PBMC pro daný testovací systém. Navíc by měla kontrola kvality používat pozitivní a negativní kontroly vyvinuté k zajištění předpokládané výkonnosti T buněk v daném testovacím systému.

Výkonnostní charakteristika

Byly prováděny klinické studie s a bez činidla T-Cell *Xtend* přidaným před separací buněk pro zpracování vzorků plné krve pomocí testu ELISPOT (test T-SPOT®.TB), které byly skladovány do 32 hodin po venepunkci.

Souhrnná shoda dat klinických studií (3 pracoviště) mezi testem T-SPOT.TB s nebo bez činidla T-Cell *Xtend* byla 96.6 % (340/352) [95 % CI 94.1-98.2 %].

Hlášení závažných příhod

Dojde-li v souvislosti s tímto prostředkem k závažné příhodě, musí být nahlášena zákaznickému servisu. Ve členských státech Evropské unie musí být závažné příhody hlášeny také příslušným orgánům dané země (ministerstvu odpovědnému za zdravotnické prostředky pro diagnostické použití *in vitro*). Informace o tom, jak se obrátit na příslušný orgán, naleznete na vládních webových stránkách. Příhoda se označuje jako „závažná příhoda“, pokud přímo či nepřímo vedla, mohla vést nebo může vést k:

- úmrtí pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
- dočasnému nebo permanentnímu závažnému zhoršení zdravotního stavu pacienta, uživatele nebo jiné osoby,
- závažnému ohrožení veřejného zdraví.

Kontaktní informace zákaznického servisu

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

Podpůrné dokumenty výrobku ke stažení a další technické informace naleznete na naší webové stránce:

www.oxfordimmunotec.com











Průvodce řešením problémů při přípravě PBMC pro metodu ELISPOT

Problém	Možná příčina	Možné řešení
Zisk malého počtu buněk	Leukopenie Nesprávný odběr krve Zkumavka na odběr krve nemá pokojovou teplotu (18–25 °C) Krev není skladována při teplotě 10–25 °C Skladování krve delší než doporučená doba	Přidejte další zkumavku na odběr krve Nepoužívejte zkumavky CPT (Cell Preparation Tubes, Becton Dickinson) nebo zkumavky na odběr krve obsahující antikoagulans EDTA Ujistěte se, že se zkumavka na odběr krve vytemperovala na pokojovou teplotu před odběrem vzorku Zajistěte přepravu krve při 10–25 °C Proveďte nový odběr krve a opakujte test
Kontaminace erytrocyty	Zkumavka na odběr krve nemá pokojovou teplotu (18–25 °C) Nesprávná centrifugace	Ujistěte se, že se zkumavka na odběr krve vytemperovala na pokojovou teplotu před odběrem vzorku Prodlužte dobu centrifugace na 30 minut Zkontrolujte, zda je centrifuga chlazená Zkontrolujte, zda má centrifuga funkční brzdu a zajistěte, aby tyto kroky pro separaci s přípravkem FICOLL byly provedeny podle pokynů výrobce
Neohraničená nebo nezřetelná vrstva mononukleárů	Centrifuga není správně kalibrovaná Rychlost centrifugace je příliš nízká Doba centrifugace je příliš krátká Hyperlipidemický vzorek	Nechte centrifugu zkalibrovat Zvyšte rychlost centrifugace na 1 500 až 1 800 RCF Prodlužte dobu centrifugace na 30 minut Odeberte vzorek na lačno
Nevalidní výsledky	Nevalidní výsledky mohou být způsobeny řadou problémů při nesprávné manipulaci se vzorky	Viz výše uvedené oddíly

Literatura

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

Vysvětlení značka

	Použit do / Datum expirace (rok-měsíc-den)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Pozor, viz návod k použití
	Výrobce
	Stačí pro „n” testů
	Prostředek pro diagnostiku <i>in vitro</i>
	Teplotní omezení / Skladovat při teplotě mezi
	Viz návod k použití
	Zplnomocněný zástupce pro EU

T-SPOT, T-Cell *Xtend* a logo Oxford Immunotec jsou ochrannými známkami společnosti Oxford Immunotec Limited.

CPT a Vacutainer jsou ochrannými známkami společnosti Becton, Dickinson and Company.

Ficoll a Ficoll-Paque jsou registrovanými ochrannými známkami společnosti Cytiva, přidružené společnosti Global Life Sciences Solutions USA LLC.

Accuspin je ochranná známka společnosti Sigma-Aldrich.

Použití činidla T-Cell *Xtend* je chráněno následujícími patenty a patenty v řízení:

EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2022 Oxford Immunotec. Všechna práva vyhrazena.

🏢 Výrobce:

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, UK
www.oxfordimmunotec.com

 Zplnomocněný zástupce pro Evropskou unii:

Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Irská republika

Číslo revize	Datum vydání	Úpravy
1–6		Podrobnosti jsou k dispozici na vyžádání u společnosti Oxford Immunotec.
7	Červen 2022	Změna adresy výrobce. Přidání historie revizí. Přidání pokynů k hlášení závažných příhod. Přidání EC REP a dovozce pro Evropskou unii podrobnosti
8	října 2022	škrtnout podrobnosti Dovozece pro Evropskou unii



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

