

T-Cell Xtend[®]



Για χρήση στην παρασκευή και απομόνωση λευκοκυττάρων
απευθείας από ολικό αίμα

ΕΝΘΕΤΟ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

Για *In Vitro* διαγνωστική χρήση

Αυτό το Εσώκλειστο Οδηγιών περιγράφει τη χρήση του προϊόντος:

T-Cell Xtend (Αριθμός καταλόγου: TTK.610)

Ενδεικνυόμενη Χρήση

Το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* προορίζεται για χρήση στην παρασκευή T κυττάρων κεκαθαρμένων από ολικό αίμα. Το αντιδραστήριο θα επιτρέψει σε εργαστήρια να απομονώσουν λεμφοκύτταρα από ολικό αίμα για έως 32 ώρες έπειτα από φλεβοπαρακέντηση για προσδιορισμό μέσω μιας εμπορικής διαδικασίας ELISPOT.

Εισαγωγή

Γενικά, οι τεχνικές ELISPOT έχουν επικυρωθεί για την επεξεργασία δειγμάτων αίματος εντός 8 ωρών από τη φλεβοπαρακέντηση. Αυτή η χρονική κλίμακα για το χειρισμό αίματος ενδέχεται να επηρεάσει το προσωπικό και τις διαδικασίες του εργαστηρίου περιορίζοντας τη ροή εργασίας για τη διεξαγωγή του προσδιορισμού. Η ένταξη του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* στη διαδικασία ELISPOT οδηγεί σε αυξημένη ευελιξία για το εργαστήριο. Δείγματα αίματος μπορούν να αποσταλούν ή/και να φυλαχτούν ολονύκτια χωρίς καμία επίδραση στη λειτουργία ή στην επίδοση των T κυττάρων.

Αρχή της μεθόδου

Η χρήση του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* ως βοήθημα στο διαχωρισμό των λεμφοκυττάρων από ολικό αίμα βελτιώνει την επιμελητεία της επεξεργασίας προσδιορισμών ELISPOT με αποθηκευμένα δείγματα. Τα T κύτταρα, που απομονώνονται από ολικό αίμα ολονύκτιας φύλαξης δείχνουν μειωμένες αποκρίσεις στη διέγερση με αντιγόνα σε προσδιορισμούς ELISPOT, κυρίως λόγω επιμόλυνσης κυτταρικών πληθυσμών στη στοιβάδα μονοτύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος (PBMC). Το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* περιέχει μονοκλωνικά αντισώματα τύπου BsMAb που στρέφονται κατά των δεικτών της επιφάνειας των κυττάρων, σε επιλεγμένα λευκά αιμοσφαίρια, και στα ερυθρά αιμοσφαίρια. Το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* συνδέει με διασταυρούμενο τρόπο τα επιλεγμένα λευκά αιμοσφαίρια με τα ερυθρά αιμοσφαίρια, γεγονός που αυξάνει την πυκνότητα των επιλεγμένων κυττάρων. Όταν εφαρμόζεται διαβάθμιση πυκνότητας κατά την εκχύλιση με FICOLL*, τα επιλεγμένα λευκά αιμοσφαίρια παραμένουν διαχωρισμένα εντός της στοιβάδας των ερυθρών αιμοσφαιρίων, μακριά από τη στοιβάδα PBMC. Μη επιλεγμένα κύτταρα, περιλαμβανομένων T κυττάρων και αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων, περιέχονται στη στοιβάδα PBMC. Μελέτες έχουν δείξει ότι η λειτουργικότητα των T κυττάρων, που παρασκευάζονται χρησιμοποιώντας το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* έπειτα από ολονύχτια αποθήκευση αίματος, είναι συγκρίσιμη με εκείνο που λαμβάνεται από φρέσκο αίμα.

Προειδοποιήσεις και Προφυλάξεις

1. Για *in vitro* διαγνωστική χρήση μόνο.
2. Για επαγγελματική χρήση μόνο. Οι χειριστές πρέπει να έχουν εκπαιδευτεί γι' αυτή τη διαδικασία.
3. Τα δείγματα αίματος θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικώς επικίνδυνα. Θα πρέπει να δίνεται προσοχή κατά το χειρισμό υλικού ανθρώπινης προέλευσης.
4. Ο χειρισμός των δειγμάτων ολικού αίματος και των συστατικών του προσδιορισμού, κατά τη χρήση, τη φύλαξη και την απόρριψη θα πρέπει να διεξάγεται σύμφωνα με τις διαδικασίες που ορίζουν οι ισχύοντες εθνικοί κανονισμοί ή οδηγίες περί ασφάλειας από βιολογικούς κινδύνους.
5. Οποιαδήποτε απόκλιση από τις συνιστώμενες διαδικασίες για μεταφορά με πιπέτα, τεχνικές πλύσης, χρόνους επώασης ή/και θερμοκρασίες ενδέχεται να επηρεάσουν τα αποτελέσματα των εξετάσεων.
6. Μην συλλέγετε αίμα σε σωλήνες κυτταρικών παρασκευασμάτων (CPT™, Becton Dickinson) ή σωλήνες συλλογής αίματος EDTA, καθώς δεν είναι συμβατά με το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend*.
7. Μην ψύχετε ή καταψύχετε δείγματα ολικού αίματος. Φυλάσσετε και μεταφέρετε τα δείγματα αίματος στο εργαστήριο σε θερμοκρασία μεταξύ 10-25 °C.
8. Προσθέτετε το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* στο ολικό αίμα πριν την επεξεργασία του δείγματος.
9. Μην αραιώνετε ή προσθέτετε άλλα συστατικά απευθείας στο αντιδραστήριο T-Cell *Xtend*.
10. Να χρησιμοποιείτε μόνο σωληνάρια μίας χρήσης για συλλογή δειγμάτων φλεβικού αίματος.
11. Μην αναμιγνύετε διαφορετικές παρτίδες σε ένα μεμονωμένο δείγμα ασθενούς.
12. Μην χρησιμοποιείτε πέραν της ημερομηνίας λήξης.
13. Μην χρησιμοποιείτε με δείγμα ολικού αίματος το οποίο έχει αποθηκευτεί για περισσότερο από 32 ώρες.
14. Χρησιμοποιήστε άσηπτες τεχνικές όταν χρησιμοποιείτε το παρόν προϊόν.

15. Μην το χρησιμοποιείτε εάν τα φιαλίδια φαίνεται να είναι κατεστραμμένα ή να είναι ήδη ανοιχτά.
16. Μην το χρησιμοποιείτε εάν το υγρό μέσα στα φιαλίδια φαίνεται αποχρωματισμένο ή έχει ίζημα.
17. Το T-Cell *Xtend* περιέχει ουσίες ζωικής προέλευσης, οι οποίες είναι δυνητικά λοιμογόνες. Υπό φυσιολογικές συνθήκες χρήσης, αυτές οι ουσίες δεν έρχονται σε επαφή με τον χρήστη.

Παρεχόμενα υλικά

Κάθε κουτί περιέχει:

Τρία (3) φιαλίδια των 2 mL μονοκλωνικών αντισωμάτων T-Cell *Xtend* (TT.610).

Φύλαξη και σταθερότητα

Φυλάσσετε τα μη-ανοιγμένα φιαλίδια του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* στους 2-8 °C, μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κουτί. Φυλάσσετε τα ανοιγμένα και επανασφραγισμένα φιαλίδια στους 2-8 °C και χρησιμοποιήστε εντός 12 εβδομάδων από το άνοιγμα, εκτός εάν το διάστημα υπερβαίνει την ημερομηνία λήξης που υπάρχει πάνω στο κουτί.

Εξοπλισμός και υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

1. Ηπαρινισμένα σωληνάρια συλλογής αίματος.
2. FICOLL ή εναλλακτικά υλικά διαχωρισμού PBMC, δηλ. σωληνάρια Accuspin™ και Leucoserp.
3. Μια φυγόκεντρος για την απομόνωση των PBMC ικανή για τουλάχιστον 1800 RCF (g) και ικανή να διατηρεί τα δείγματα σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-25 °C), εάν χρησιμοποιούνται μέθοδοι φυγοκέντρησης πυκνότητας για το διαχωρισμό των PBMC.
4. Θάλαμος Επιπέδου Βιοασφάλειας 2 (BL2) (συνιστάται).
5. Πιπέτες και στείρα ρύγχη πιπέτας.
6. Κιτ ELISPOT.

Διαδικασία

Σημείωση: Τα ακόλουθα βήματα θα πρέπει να πραγματοποιούνται χρησιμοποιώντας τις αρχές της ορθής εργαστηριακής πρακτικής:

1. Συλλέξτε ολικό αίμα σε σωληνάρια συλλογής αίματος ηπαρίνης λιθίου και φυλάσσετε για έως 32 ώρες στους 10-25 °C.
2. Αμέσως πριν από τη χρήση σε ένα εμπορικό προσδιορισμό ELISPOT, προσθέστε 25 μL από το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* ανά mL ολικού αίματος αφαιρώντας το καπάκι του σωληναρίου συλλογής και μεταφέροντας με πιπέτα το συνιστώμενο όγκο.
3. Επανατοποθετήστε το καπάκι και αναστρέψτε απαλά το σωληνάριο συλλογής αίματος 8 έως 10 φορές.
4. Επωάστε το ολικό αίμα με το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* για 20 ± 5 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-25 °C).
5. Απομονώστε το κλάσμα PBMC χρησιμοποιώντας φυγοκέντρηση διαβάθμισης πυκνότητας FICOLL ή εναλλακτική μέθοδο απομόνωσης PBMC.
6. Προετοιμάστε τα PBMC για τον προσδιορισμό ELISPOT ακολουθώντας τις οδηγίες χρήσης του κατασκευαστή του kit ELISPOT.

Σημείωση: Τα εκάστοτε εργαστήρια θα πρέπει να επικυρώνουν τις διαδικασίες τους για τη συλλογή και το διαχωρισμό των PBMC ώστε να λαμβάνουν επαρκείς αριθμούς. Συνιστάται:

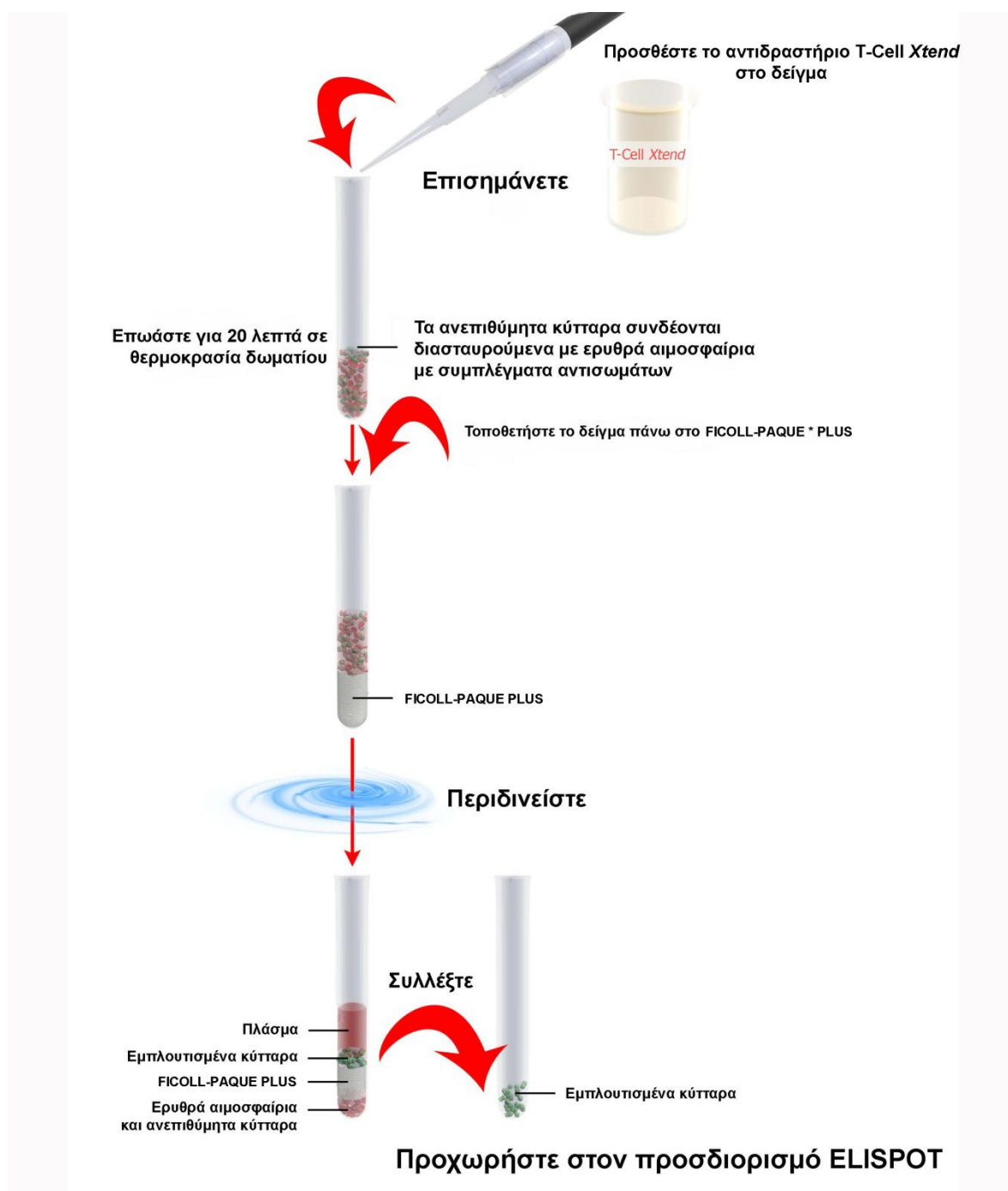
- Τα δείγματα αίματος να συλλέγονται σε σωληνάρια συλλογής αίματος ηπαρίνης λιθίου με τα PBMC να διαχωρίζονται ακολούθως χρησιμοποιώντας καθιερωμένες τεχνικές διαχωρισμού, όπως η διαβάθμιση πυκνότητας FICOLL. Εναλλακτικές μέθοδοι για τον καθαρισμό του κλάσματος PBMC μπορούν να χρησιμοποιηθούν εάν είναι επιθυμητό, π.χ. προγεμισμένα με FICOLL σωληνάρια Accuspin ή Leucosep.
- Τα κύτταρα ενός ασθενούς μπορούν να συνενωθούν, εάν απαιτείται, προκειμένου να ληφθούν επαρκή κύτταρα από πολλαπλά σωληνάρια αίματος τα οποία έχουν συλλεχθεί και επεξεργάζονται ταυτοχρόνως.

Συνήθως, για έναν ασθενή με ανοσολογική ανεπάρκεια, επαρκή PBMC για την εκτέλεση του προσδιορισμού μπορούν να ληφθούν από δείγματα φλεβικού αίματος σύμφωνα με τις ακόλουθες κατευθυντήριες οδηγίες:

- Ενήλικες και παιδιά ηλικίας άνω των 2 ετών: ένα σωληνάριο ηπαρίνης λιθίου των 6 mL
- Παιδιά ηλικίας έως 2 ετών: ένα παιδιατρικό σωληνάριο των 2 mL

Προετοιμασία αντιδραστήριου

Το αντιδραστήριο T-Cell Xtend παρέχεται έτοιμο προς χρήση. Δεν απαιτείται προετοιμασία του αντιδραστήριου.



Εικόνα 1: Διάγραμμα που δείχνει πώς το αντιδραστήριο T-Cell Xtend θα πρέπει να ενσωματωθεί σε ένα πρωτόκολλο ELISPOT για χρήση με αποθηκευμένο/απεσταλμένο ολικό αίμα έως 32 ώρες μετά τη φλεβοπαράκέντηση.

Περιορισμοί

1. Το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* είναι ένα διαγνωστικό βοήθημα. Τα αποτελέσματα της εξέτασης θα πρέπει να ερμηνεύονται σε συνδυασμό με τα αποτελέσματα της διαγνωστικής εξέτασης που χρησιμοποιείται.

Ποιοτικός έλεγχος

Εσωτερικός έλεγχος του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* δεν έχει δείξει σημαντική μείωση στην παραγωγή PBMC ή πληθυσμών T κυττάρων, όταν συγκρίνονται δείγματα ολικού αίματος αποθηκευμένα για λιγότερες από 8 ώρες μετά τη φλεβοπαρακέντηση με δείγματα ολικού αίματος αποθηκευμένα για έως 32 ώρες στα οποία χορηγήθηκε το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend*. Ως μέρος μιας ενέργειας ποιοτικού ελέγχου ενός μεμονωμένου εργαστηρίου, μέθοδοι καταμέτρησης κυττάρων θα πρέπει να σχεδιαστούν και να επικυρωθούν προκειμένου να διασφαλιστεί ότι επαρκή PBMC έχουν ληφθεί για το σχετικό σύστημα εξέτασης. Επιπλέον, ενέργειες ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να εφαρμόζουν τη χρήση θετικών και αρνητικών μαρτύρων που έχουν αναπτυχθεί ώστε να εξασφαλίσουν την αναμενόμενη απόδοση των T κυττάρων εντός του σχετικού συστήματος εξέτασης.

Χαρακτηριστικά απόδοσης

Διεξήχθησαν κλινικές μελέτες με και χωρίς προσθήκη του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* πριν από το διαχωρισμό των κυττάρων για την επεξεργασία δειγμάτων ολικού αίματος με προσδιορισμό ELISPOT (ανάλυση T-SPOT®.TB), τα οποία έχουν αποθηκευτεί για έως και 32 ώρες μετά τη φλεβοπαρακέντηση.

Το γενικό ποσοστό συμφωνίας για τα δεδομένα της κλινικής μελέτης (3 κέντρα) ανάμεσα στην ανάλυση T-SPOT.TB με και χωρίς το αντιδραστήριο T-Cell *Xtend* ήταν 96,6 % (340/352) [95 % CI 94,1-98,2 %].

Αναφορά σοβαρών περιστατικών

Εάν συμβεί κάποιο σοβαρό περιστατικό σε σχέση με αυτήν τη συσκευή, θα πρέπει να αναφερθεί στο κέντρο εξυπηρέτησης πελατών. Στα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης, τα σοβαρά περιστατικά θα πρέπει επίσης να αναφέρονται στην αρμόδια αρχή (το κυβερνητικό τμήμα που είναι αρμόδιο για τα *in vitro* διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα) στη χώρα σας. Ανατρέξτε στην ιστοσελίδα της κυβέρνησης για λεπτομέρειες σχετικά με τον τρόπο επικοινωνίας με την αρμόδια αρχή στη χώρα σας. Ως «σοβαρό περιστατικό» νοείται κάθε περιστατικό που άμεσα ή έμμεσα οδήγησε, θα μπορούσε να έχει οδηγήσει ή μπορεί να οδηγήσει σε:

- θάνατο ασθενούς, χρήστη ή άλλου ατόμου,
- προσωρινή ή μόνιμη σοβαρή επιδείνωση της κατάστασης της υγείας του ασθενούς, του χρήστη ή άλλου ατόμου,
- σοβαρή απειλή για τη δημόσια υγεία.

Στοιχεία επικοινωνίας κέντρου εξυπηρέτησης πελατών

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

Για λήψεις υλικού υποστήριξης προϊόντων και περισσότερες τεχνικές πληροφορίες, επισκεφτείτε την ιστοσελίδα μας:
www.oxfordimmunotec.com











Αντιμετώπιση προβλημάτων στην προετοιμασία των PBMC για ELISPOT

Πρόβλημα	Πιθανό αίτιο	Πιθανή λύση
Χαμηλή παραγωγή κυττάρων	<p>Λευκοπενία</p> <p>Λανθασμένη συλλογή αίματος</p> <p>Το σωληνάριο συλλογής αίματος δεν βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C)</p> <p>Η φύλαξη αίματος δεν είναι στους 10-25 °C</p> <p>Η φύλαξη αίματος είναι πέραν του συνιστώμενου χρόνου</p>	<p>Προσθέστε επιπρόσθετο σωλήνα συλλογής αίματος</p> <p>Μη χρησιμοποιείτε σωληνάρια προετοιμασίας κυττάρων (CPT, Becton Dickinson) ή σωληνάρια συλλογής αίματος που περιέχουν αντιπηκτικό EDTA</p> <p>Βεβαιωθείτε ότι το σωληνάριο συλλογής αίματος έχει έρθει σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη συλλογή του δείγματος</p> <p>Βεβαιωθείτε ότι η αποστολή του αίματος είναι στους 10-25 °C</p> <p>Συλλέξτε άλλο ένα δείγμα αίματος και επαναλάβετε την εξέταση</p>
Μόλυνση ερυθρών αιμοσφαιρίων	<p>Το σωληνάριο συλλογής αίματος δεν βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (18-25 °C)</p> <p>Ακατάλληλη φυγοκέντρηση</p>	<p>Βεβαιωθείτε ότι το σωληνάριο συλλογής αίματος έχει έρθει σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη συλλογή του δείγματος</p> <p>Αυξήστε το χρόνο φυγοκέντρησης στα 30 λεπτά</p> <p>Ελέγξτε ότι η φυγόκεντρος είναι ψυχόμενη.</p> <p>Ελέγξτε ότι η φυγόκεντρος έχει φρένο που λειτουργεί και εξασφαλίστε ότι τα βήματα αυτά πραγματοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή για το διαχωρισμό FICOLL</p>
Μη καθορισμένη ή ευδιάκριτη στοιβάδα μονοπύρηνων	<p>Η φυγόκεντρος δεν είναι σωστά βαθμονομημένη</p> <p>Η ταχύτητα της φυγόκεντρος είναι πολύ χαμηλή</p> <p>Ο χρόνος του φυγοκεντρωτή είναι πολύ μικρός</p> <p>Υπερλιπαιμικό δείγμα</p>	<p>Βαθμονομήστε τη φυγόκεντρο</p> <p>Αυξήστε την ταχύτητα της φυγόκεντρος ώστε να αποδίδει 1500-1800 RCF</p> <p>Αυξήστε το χρόνο φυγοκέντρησης στα 30 λεπτά</p> <p>Συλλέξτε δείγμα αίματος νηστείας</p>
Άκυρα αποτελέσματα	<p>Άκυρα αποτελέσματα μπορεί να προκαλούνται από διάφορα θέματα λανθασμένου χειρισμού δειγμάτων</p>	<p>Ανατρέξτε στις παραπάνω ενότητες</p>

Βιβλιογραφικές αναφορές

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

Γλωσσάριο συμβόλων

	Χρήση έως/Ημερομηνία λήξης (Έτος-Μήνας-Ημέρα)
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός καταλόγου
	Προσοχή, βλ. οδηγίες χρήσης
	Παραγωγός
	Επαρκές για δοκιμασίες “n”
	<i>In vitro</i> διαγνωστική συσκευή
	Περιορισμός θερμοκρασίας/Διατηρήστε σε θερμοκρασία μεταξύ
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την ΕΕ

Οι ονομασίες T-SPOT, T-Cell *Xtend* και το λογότυπο Oxford Immunotec είναι εμπορικά σήματα της Oxford Immunotec Limited.

Οι ονομασίες CPT και Vacutainer είναι εμπορικά σήματα της Becton, Dickinson and Company.


Οι ονομασίες Ficoll και Ficoll-Paque είναι σήματα κατατεθέντα της Cytiva, θυγατρικής της Global Life Sciences Solutions USA LLC.

Η ονομασία Accuspin αποτελεί εμπορική ονομασία της Sigma-Aldrich.

Η χρήση του αντιδραστηρίου T-Cell *Xtend* προστατεύεται από τα ακόλουθα διπλώματα ευρεσιτεχνίας και διπλώματα ευρεσιτεχνίας που βρίσκονται στο στάδιο της έγκρισης: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2023, Oxford Immunotec Limited. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

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

 Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την Ευρωπαϊκή Ένωση:
Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Republic of Ireland

Αριθμός αναθεώρησης	Ημερομηνία έκδοσης	Τροποποιήσεις
1 - 6		Λεπτομέρειες είναι διαθέσιμες κατόπιν αιτήματος από την Oxford Immunotec.
7	Ιούνιος 2022	Αλλαγή διεύθυνσης κατασκευαστή. Προσθήκη ιστορικού αναθεωρήσεων. Προσθήκη οδηγιών για αναφορά σοβαρών περιστατικών, EC REP και Εισαγωγέας για την Ευρωπαϊκή Ένωση λεπτομέρειες
8	Οκτώβριος 2022	Διαγραφή Εισαγωγέα για λεπτομέρειες της Ευρωπαϊκής Ένωσης
9	Νοέμβριος 2023	Διαγραφή της φράσης «εταιρεία PerkinElmer» από το λογότυπο



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