

T-Cell Xtend[®]



Tisztított limfociták preparálásához és izolálásához
közvetlenül teljes vérből

HASZNÁLATI UTASÍTÁS

In vitro diagnosztikai alkalmazásra

A Kezelési útmutató a következő használatára vonatkozik:

T-Cell Xtend (Katalógusszám: TTK.610)

Rendeltetés

A T-Cell *Xtend* reagens rendeltetése teljes vérből tisztított T-sejtek preparálásához való felhasználás. A reagens lehetővé teszi a limfociták laboratóriumi izolálását teljes vérből, kereskedelmi forgalomban kapható ELISPOT-módszerrel végzendő vizsgálathoz, a vénapunkciót követően akár 32 órával.

Bevezetés

Az ELISPOT-technikák validálása általában a vérmintáknak a vénapunkciótól számított 8 órán belül történő feldolgozására terjed ki. A vér kezelésének ez az időbeosztása kihatással lehet a laboratóriumi személyzetre és az eljárásokra azáltal, hogy korlátozza a teszt elvégzésének munkafolyamatát. A T-Cell *Xtend* reagens beépítése az ELISPOT-folyamatba fokozott rugalmasságot nyújt a laboratóriumnak. A vérminták éjszakán át szállíthatók vagy tárolhatók anélkül, hogy ez a T-sejtek funkciójára vagy teljesítményére hatással lenne.

A módszer elve

A T-Cell *Xtend* reagens segédeszközként való alkalmazásával a teljes vérből történő limfocita-elkülönítés során tökéletesíthető a tárolt mintákon végzett ELISPOT-tesztek feldolgozásának logisztikája. Az éjszakán át tárolt teljes vérből izolált T-sejtek ELISPOT-tesztben csökkent választ adnak az antigén-stimulációra, elsősorban a perifériális vér mononukleáris sejt (PBMC) rétegében jelen lévő szennyező sejtpopulációk miatt. A T-Cell *Xtend* reagens bispecifikus monoklonális antitesteket tartalmaz, amelyek bizonyos kiválasztott fehérvérsejtek és vörösvértestek felszíni markerei ellen irányulnak. A T-Cell *Xtend* reagens keresztkötéseket hoz létre bizonyos kiválasztott fehérvérsejtek és a vörösvértestek között, ami növeli e kiválasztott sejtek sűrűségét. Amikor sűrűség-gradienst alkalmaznak a FICOLL-extrakció során, a kiválasztott fehérvérsejtek a PBMC-rétegtől elkülönülve, a vörösvértestek rétegében maradnak. Ekkor a ki nem választott sejtek, köztük a T-sejtek és az antigén-prezentáló sejtek a PBMC-rétegben vannak. A vizsgálatok kimutatták, hogy az éjszakán át tárolt vérből a T-Cell *Xtend* reagens felhasználásával preparált T-sejtek funkcionalitása a frissen vett vérből meghatározottával összehasonlítható.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

1. Kizárólag *in vitro* diagnosztikai alkalmazásra.
2. Kizárólag szakemberek általi használatra; a felhasználókat ki kell képezni ennek az eljárásnak a végzésére.
3. A vérmintákat potenciálisan veszélyesnek kell tekinteni. Emberi eredetű anyagok kezelésénél óvatosan kell eljárni.
4. A teljesvér-mintáknak és a teszt komponenseinek felhasználása, tárolása és hulladékba helyezése során a megfelelő nemzeti biobiztonsági irányelvekben vagy előírásokban meghatározott eljárásoknak megfelelően kell eljárni.
5. A pipettázásra, a mosási technikákra, valamint az inkubálási időkre és/vagy hőmérsékletekre javasolt eljárásoktól való bármilyen eltérés befolyásolhatja a teszt eredményét.
6. Ne gyűjtse a vért sejtpreparáló csövekbe (Cell Preparation Tubes, CPT™, Becton Dickinson) vagy EDTA-s vérvételi csövekbe, mert ezek nem kompatibilisek a T-Cell *Xtend* reagenssel.
7. A teljesvér-mintákat nem szabad hűteni vagy fagyasztani. A vérmintákat 10-25 °C közötti hőmérsékleten kell tárolni és szállítani.
8. A T-Cell *Xtend* reagenst a minta feldolgozása előtt kell a teljes vérhez hozzáadni.
9. A T-Cell *Xtend* reagenst ne hígítsa és közvetlenül ne adjon hozzá más komponenseket.
10. Vénásvér-minták gyűjtésére kizárólag egyszer használatos csöveket használjon.
11. Egyazon betegről származó mintában ne vegyítsen össze különböző gyártási tételekből származó reagenzeket.
12. A lejáratú időn túl ne használja.
13. Ne használja 32 óránál hosszabb ideig tárolt teljesvér-mintához.
14. E termék felhasználásakor alkalmazzon aseptikus technikákat.
15. Ne használja fel, ha úgy látja, hogy a csövek megsérültek vagy már fel vannak nyitva.
16. Ne használja fel, ha úgy látja, hogy a csövekben lévő folyadék elszíneződött vagy csapadékot tartalmaz.
17. A T-Cell *Xtend* potenciálisan fertőző, állati eredetű anyagokat tartalmaz. Normál felhasználási körülmények esetén ezek az anyagok nem érintkeznek a felhasználóval.

Mellékelt anyagok

A doboz tartalma:

T-Cell *Xtend* monoklonális antitest három (3) db 2 mL-es csőben (TT.610).

Tárolás és stabilitás

A T-Cell *Xtend* reagens felbontatlan csövei a dobozon feltüntetett lejárati idő leteltéig 2-8 °C-on tárolandók. A felnyitott és visszazárt csövek 2-8 °C-on tárolandók, és 12 héten belül felhasználhatók, hacsak közben a dobozon feltüntetett lejárati idő le nem telik.

Szükséges, de nem mellékelt felszerelések és anyagok

1. Heparinizált vérvételi csövek.
2. FICOLL, vagy egyéb választható anyagok PBMC elválasztásához, azaz Accuspin™ vagy Leucosep csövek.
3. Ha a PBMC-k izolálása sűrűséggradiens-centrifugálási módszerekkel történik: legalább 1800 RCF (g) előállítására, valamint a minták szobahőmérsékleten (18-25 °C) való tartására képes centrifuga a PBMC-k izolálásához.
4. 2. biobiztonsági szintű (BL 2) fülke (javasolt).
5. Pipetták és steril pipettahegyek.
6. ELISPOT kit.

Eljárás

Megjegyzés: A következő lépések a helyes laboratóriumi gyakorlat elveinek megfelelően végzendők:

1. Gyűjtse a teljes vért lítium-heparinos vérvételi csövekbe és tárolja legfeljebb 32 órán át 10-25 °C-on.
2. Közvetlenül a kereskedelmi forgalomban kapható ELISPOT-tesztben való felhasználást megelőzően adjon a begyűjtött teljes vérhez mL-enként 25 µL T-Cell *Xtend* reagenst: távolítsa el a gyűjtőcső kupakját, és pipettázza a csőbe a javasolt térfogatú oldatot.
3. Helyezze vissza a kupakot és 8-10-szer óvatosan fordítsa fel, majd vissza a vérvételi csövet.
4. Az T-Cell *Xtend* reagenst tartalmazó teljes vért inkubálja 20 ± 5 percig szobahőmérsékleten (18-25 °C).
5. FICOLL sűrűséggradiens-centrifugálással vagy egyéb választható izoláló módszerrel izolálja a PBMC-frakciót.
6. Az ELISPOT kit gyártója által megadott használati utasítás szerint készítse elő a PBMC-t az ELISPOT-teszthez.

Megjegyzés: Az egyes laboratóriumoknak validálniuk kell a PBMC-k gyűjtésére és izolálására szolgáló eljárásaikat annak biztosításához, hogy elegendő legyen az összegyűjtött sejtek száma. A következők betartása javasolt:

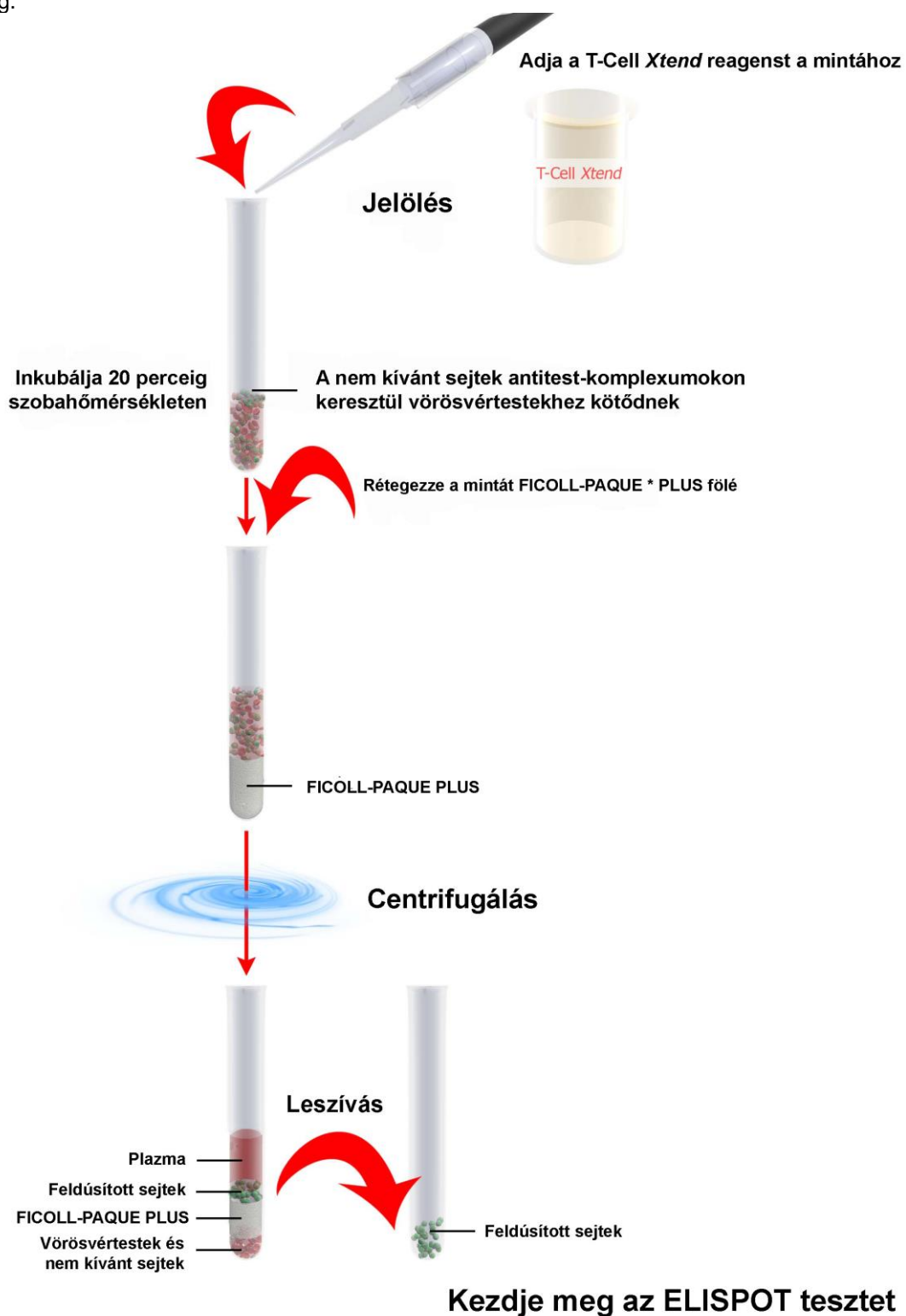
- A vérminták gyűjtése lítium-heparinos vérvételi csövekbe történik, ezt követően a PBMC-eket standard elválasztási eljárásokkal, például FICOLL sűrűséggradiens segítségével izolálják. A PBMC-frakció tisztításához egyéb módszerek is választhatók, például FICOLL oldattal előre betöltött Accuspin vagy Leucosep csövek használata.
- Szükség esetén egy betegtől származó sejtek összeönthetők, hogy a több csőben, párhuzamosan gyűjtött és feldolgozott vérből elegendő számú sejtet lehessen nyerni.

Tipikus esetben, immunkompetens betegnél a teszt elvégzéséhez elegendő PBMC nyerhető a vénásvér-mintákból a következő irányelvek szerint:

- Felnőttek és 2 évesnél idősebb gyermekek: egy db 6 mL-es lítium-heparinos cső
- Gyermekek 2 éves korig: egy db 2 mL-es gyermek vérvételi cső

Reagenskészítés

A T-Cell *Xtend* reagens használatra készen kerül kiszerezésre. Reagenskészítésre nincs szükség.



1. ábra: Vázlat annak bemutatására, hogyan illeszthető be a T-Cell *Xtend* reagens a tárolt/szállított teljes vérrrel végzett ELISPOT-protokollba, a vénapunkció után legfeljebb 32 órával való felhasználáshoz.

Korlátozások

1. A T-Cell *Xtend* reagens diagnosztikai segédeszköz. A teszt eredményeit az alkalmazott diagnosztikai teszt eredményeivel együttesen kell értelmezni.

Minőségellenőrzés

A T-Cell *Xtend* reagens házon belüli tesztelése nem mutatott szignifikáns csökkenést a PBMC-hozamban vagy a T-sejtpopulációkban a vénapunkció után 8 óránál rövidebb ideig tárolt teljesvér-minták és a legfeljebb 32 óra hosszát tárolt, T-Cell *Xtend* reagenssel kezelt teljesvér-minták összehasonlításakor. Az egyes laboratóriumok minőségellenőrzési tevékenysége részeként sejtszámláló módszereket kell tervezni és validálni a tesztrendszerhez elegendő mennyiségű PBMC gyűjtésének biztosítására. Emellett a minőségellenőrzésben pozitív és negatív kontrollokat is alkalmazni kell, amelyeket a T-sejtek várt teljesítményének biztosítására fejlesztettek ki a releváns tesztrendszerben.

Teljesítményjellemzők

Klinikai vizsgálatokat folytattak teljesvér-mintáknak vénapunkciót követő 32 órán belüli, a T-Cell *Xtend* reagens sejtelkülönítés előtti hozzáadásával és anélkül végzett ELISPOT-teszttel (T-SPOT®. *TB* teszt) történő végrehajtására vonatkozóan.

A T-Cell *Xtend* reagens hozzáadásával és anélkül végzett klinikai vizsgálatok (3 helyen) T-SPOT. *TB* teszteredményeinek általános megegyezése 96,6 % (340/352) volt [95 % CI 94,1-98,2 %]

Súlyos események jelentése

Ha az eszköz kapcsán súlyos esemény következett be, ezt jelenteni kell az Ügyfélszolgálatnak. Az Európai Unió tagállamaiban továbbá országa illetékes hatóságának (az in vitro orvosi diagnosztikai eszközökért felelős kormányhivatalnak) is jelenteni kell a súlyos eseményeket. Az illetékes hatósággal való kapcsolatfelvétel részleteit illetően kérjük, tekintse meg országa kormányzati weboldalát. A „súlyos esemény” bármely olyan eseményt jelent, amely közvetlenül vagy közvetve a következőket okozta, okozhatta vagy okozhatja:

- a beteg, a felhasználó vagy más személy halála;
- a beteg, a felhasználó vagy más személy egészségi állapotának súlyos romlása ideiglenes vagy végleges jelleggel;
- súlyos közegészségügyi veszély.

Ügyfélszolgálat elérhetőségei

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

Letölthető terméktámogatási anyagokért és további technikai információkért kérjük, keresse fel weboldalunkat:

www.oxfordimmunotec.com











Hibaelhárítási útmutató ELISPOT céljára történő PBMC-preparáláshoz

Probléma	Lehetséges ok	Lehetséges megoldás
Alacsony sejthozam	<p>Leukopenia</p> <p>Helytelen vérvétel</p> <p>A vérvételi cső nem szobahőmérsékletű (18-25 °C)</p> <p>A vér tárolási hőmérséklete nem 10-25 °C</p> <p>A vért a javasolt tárolási időn túl tárolták</p>	<p>Használja fel még egy vérvételi cső tartalmát</p> <p>Ne használjon sejtpreparáló csöveket (CPT, Becton Dickinson) vagy EDTA véralvadásgátlót tartalmazó vérvételi csöveket</p> <p>A mintavétel előtt várja meg, amíg a vérvételi cső szobahőmérsékletre melegszik</p> <p>Ellenőrizze, hogy a vérszállítmány 10-25 °C hőmérsékleten van</p> <p>Gyűjtsön másik vérmintát, és ismételje meg a tesztet</p>
Vörösvértest-szennyeződés	<p>A vérvételi cső nem szobahőmérsékletű (18-25 °C)</p> <p>Helytelen centrifugálás</p>	<p>A mintavétel előtt várja meg, amíg a vérvételi cső szobahőmérsékletre melegszik</p> <p>A centrifugálás idejét növelje 30 percre</p> <p>Ellenőrizze, hogy a centrifuga hűtve van-e</p> <p>Ellenőrizze, hogy a centrifuga fékje működőképes-e, és biztosítsa, hogy ezek a lépések a gyártónak a FICOLL-gradiensén való elválasztásra vonatkozó utasításai szerint történjenek.</p>
Nincs elkülönülő vagy jól kivehető mononukleáris sejtréteg	<p>A centrifuga kalibrációja hibás</p> <p>A centrifuga sebessége túl alacsony</p> <p>A centrifugálás ideje túl rövid</p> <p>Hiperlipémiás minta</p>	<p>Kalibráltassa a centrifugát</p> <p>Növelje a centrifuga sebességét 1500-1800 g-re</p> <p>Növelje a centrifugálás időtartamát 30 percre</p> <p>Éhgyomri vérvétel</p>
Érvénytelen eredmények	A mintakezelés számos hibája okozhat érvénytelen eredményeket	Lásd fent

Irodalmi hivatkozások

1. NCCLs procedure H3 – A5, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venepuncture (Diagnosztikai vérminták levételi eljárásai vénapunkció útján)

Jelmagyarázat

	... előtt felhasználandó / Lejárató idő (év-hónap-nap)
	Gyártási tétel száma
	Katalógusszám
	Figyelem, lásd a használati utasítást
	Gyártó
	„n” vizsgálat elvégzéséhez elegendő
	<i>In vitro</i> diagnosztikai eszköz
	Hőmérsékleti korlátozás / ...-... °C között tárolandó
	Nézze meg a használati utasításban
	EU meghatalmazott képviselő

A T-SPOT, T-Cell *Xtend* és az Oxford Immunotec logó az Oxford Immunotec Limited védjegye.

A CPT és a Vacutainer a Becton, Dickinson and Company védjegye.

A Ficoll és a Ficoll-Paque a Cytiva, a Global Life Sciences Solutions USA LLC társult vállalkozása bejegyzett védjegye.

Az Accuspin a Sigma-Aldrich védjegye.

A T-Cell *Xtend* reagens használatát a következő szabadalmak és bejelentett szabadalmak védik: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2024, Oxford Immunotec. Minden jog fenntartva.

■ Gyártó:

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

 Európai Unió meghatalmazott képviselő:

Wallac Oy
Mustionkatu 6,
FI-20750 Turku,
Finnország

Felülvizsgálat száma	Kiadás időpontja	Módosítások
1 - 6		A részletek kérésre hozzáférhetők az Oxford Immunotec vállalatnál.
7	2022. Június	Gyártó címének változása. A felülvizsgálati előzmények hozzáadása. A súlyos események jelentését illető utasítások hozzáadása, EC REP és az Európai Unió importőr adatait.
8	2022. október	Törölje az Európai Unió importőr.
9	2023. November	A "PerkinElmer vállalat" törlése a logóból
10	2024. szeptember	Változás a meghatalmazott képviselő személyében EU-ban



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



www.oxfordimmunotec.com