

T-Cell Xtend[®]



Brukes til preparering og isolering av rensede
lymfocytter direkte fra helblod

PAKNINGSVEDLEGG

Brukes til *in vitro* diagnostikk

Dette pakningsvedlegget omtaler bruken av:

T-Cell Xtend (katalognummer: TTK.610)

Bruksområde

T-Cell *Xtend*-reagenset er beregnet for bruk til preparering av T-celler som er isolert fra fullblod. Reagenset vil gjøre det mulig for laboratorier å isolere lymfocytter fra helblod inntil 32 timer etter venepunksjon for analyse med en kommersiell ELISPOT-prosedyre.

Innledning

Generelt så er ELISPOT-teknikken beregnet for behandling av blodprøver innen 8 timer etter venepunksjon. Denne tidsrammen for behandling av blod kan påvirke laboratoriepersonellet og begrense arbeidsflyten ved utførelsen av analysen. Introduksjon av T-Cell *Xtend*-reagenset i ELISPOT prosessen medfører en øket fleksibilitet for laboratoriet. Blodprøver kan bli transportert og/eller lagret over natten uten noen innvirkning på T-cellefunksjonen eller yteevne.

Prinsipp

Bruk av T-Cell *Xtend*-reagenset som et hjelpemiddel i separasjonen av lymfocytter fra helblod forbedrer logistikken ved utførelse av ELISPOT-analyser med lagrede prøver. T-celler isolert fra helblod lagret over natten, ser ut til å vise redusert respons for stimulering med antigener i Elispot-analyser, dette skyldes primært kontaminering av cellepopulasjoner i det mononukleære celledsjikt i perifert blod (PBMC). T-Cell *Xtend*-reagenset inneholder bispesifikke monoklonale antistoffer som er rettet mot celleoverflatemarkører på selekterte hvite blodceller og røde blodceller. T-Cell *Xtend*-reagenset kryssbinder de selekterte hvite blodcellene med de røde blodcellene, noe som øker tettheten av de selekterte cellene. Når det benyttes en tetthetsgradient under FICOLL*-ekstraksjon, så vil de selekterte hvite blodcellene forbli separert innenfor det røde blodcellesjiktet i avstand fra PBMC-sjiktet. PBMC-sjiktet inneholder ikke-selekterte celler, inkludert T-celler og antigenreaktive celler. Studier har vist at funksjonaliteten til T-celler preparert med T-Cell *Xtend*-reagenset etter lagring av blodet over natten er sammenliknbart med det som oppnås med ferskt blod.

Advarsler og forsiktighetsregler

1. Skal kun brukes til *in vitro* diagnostikk.
2. Kun til profesjonelt bruk; personell må få opplæring i denne prosedyren.
3. Blodprøver må betraktes som potensielt farlig materiale. Det må vises forsiktighet når man håndterer biologisk materiale fra mennesker.
4. Håndtering av fullblodprøver og analysemateriale under bruk, lagring eller som avfall må være i henhold til nasjonalt lovverk og retningslinjer for sikker håndtering av biologisk materiale.
5. Ethvert avvik fra anbefalt prosedyre for pipettering, vasketeknikk, inkuberingstider og/eller temperaturer kan innvirke på testresultatene.
6. Ikke ta blodprøver i celleprepareringsrør (CPT™, Becton Dickinson) eller EDTA blodprøverør da de ikke er kompatible med T-Cell *Xtend*-reagenset.
7. Fullblodprøver skal ikke avkjøles eller fryses. Blodprøvene skal lagres og transporteres til laboratoriet ved en temperatur mellom 10-25 °C.
8. Tilsett T-Cell *Xtend*-reagenset til helblod før prøvebehandling.
9. Ikke fortynn eller tilsett andre komponenter direkte til T-Cell *Xtend*-reagenset
10. Bruk bare engangskontainere for prøvetaking av veneblod.
11. Ikke bland ulike lotnummer i en enkel pasientprøve.
12. Må ikke brukes etter utløpsdato.
13. Må ikke brukes til prøver av fullblod som er blitt lagret lengre enn 32 timer.
14. Bruk aseptisk teknikk når dette produktet benyttes.
15. Må ikke brukes dersom hetteglassene synes å være skadet eller allerede åpnet.
16. Må ikke brukes dersom væsken i hetteglassene virker misfarget eller har bunnfelling.
17. T-Cell *Xtend* inneholder stoffer av animalsk opprinnelse som er potensielt smittsomme. Under normale bruksforhold kommer ikke disse stoffene i kontakt med brukeren.

Medfølgende materiell

Hver eske inneholder:

Tre (3) 2 mL hetteglass med T-Cell *Xtend* monoklonalt antistoff (TT.610).

Oppbevaring og stabilitet

Uåpnet hetteglass med T-Cell *Xtend*-reagenset kan oppbevares ved 2-8 °C inntil utløpsdato som er trykt på esken. Åpnet og reforseglet hetteglass oppbevares ved 2-8 °C og brukes innen 12 uker etter åpning, forutsatt at denne perioden ikke går utover utløpsdato på esken.

Nødvendig utstyr og materiell som er inkludert

1. Heparinisert blodprøverør.
2. FICOLL eller alternative PMBC-separasjonsutstyr, f.eks. Accuspin™ og Leucosep rør.
3. En sentrifuge til isolering av PBMC som gir minst 1800 RCF (g) og som kan holde prøvene ved omgivende romtemperatur (18-25 °C) dersom det benyttes tetthetsgradient-sentrifugering som metode for å separere PBMC.
4. Skap, biosikkerhetsnivå 2 (BL 2) (anbefalt).
5. Pipetter and sterile pipettespisser.
6. ELISPOT-sett.

Bruksanvisning

NB: Følgende trinn bør utføres i henhold til god laboratoriepraksis (Good Laboratory Practice, GLP):

1. Ta fullblod i litiumhepariniserte blodprøverør og oppbevar dem inntil 32 timer ved 10-25 °C.
2. Umiddelbart før bruk i en kommersiell ELISPOT-analyse tilsettes 25 µL av T-Cell *Xtend*-reagenset per mL helblod ved å fjerne prøverørskorken og pipettere over det anbefalte volum.
3. Sett på korken igjen og vend blodprøverøret 8 til 10 ganger.
4. Inkuber helblodet med T-Cell *Xtend*-reagenset i 20 ± 5 minutter ved omgivende temperatur (18-25 °C).
5. Isoler PBMC-fraksjonen ved å bruke FICOLL tetthetsgradient-sentrifugering eller en alternativ PBMC-isolasjonsmetode.
6. Preparer PBMC for ELISPOT-analysen ved å følge bruksanvisningen til produsenten av ELISPOT-settet.

NB! De enkelte laboratoriene bør kvalitetssikre sine prosedyrer for prøvetaking og separering av PBMC for å få tilstrekkelig antall celler. Det er anbefalt at:

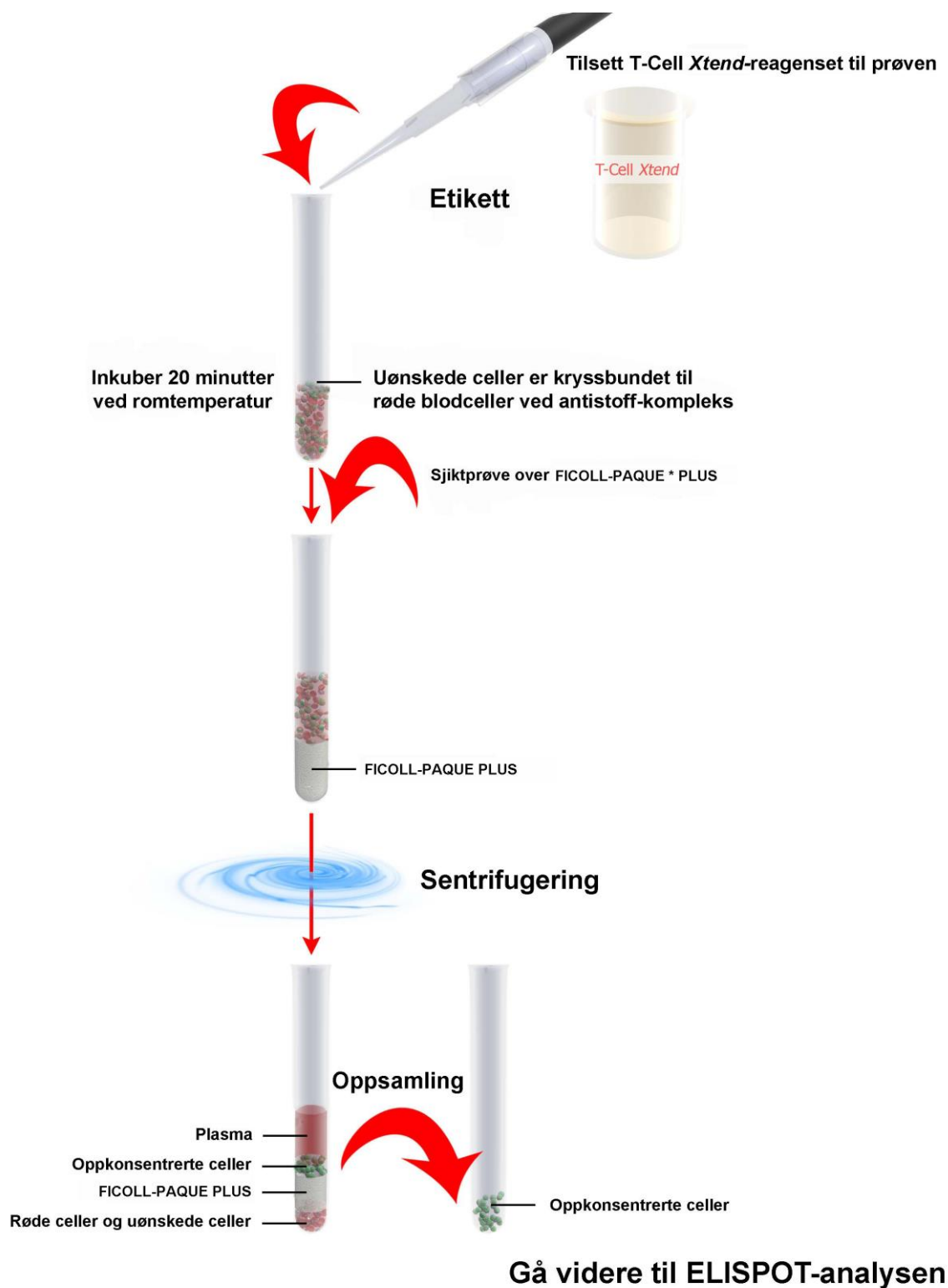
- Blodprøver blir tatt i litiumhepariniserte blodprøverør slik at PMBC deretter kan bli separert ved å bruke en standard separasjonsteknikk slik som en FICOLL tetthetsgradient. Dersom det er ønskelig kan alternative metoder for å rense PBMC-fraksjonen benyttes, f.eks. Accuspin eller Leucosep ferdigfylte FICOLL-rør.
- Dersom det er nødvendig kan celler fra flere blodprøverør som har blitt tatt og behandlet samtidig slås sammen for å få et tilstrekkelig antall celler.

Typisk for en immunkompetent pasient kan tilstrekkelig PBMC for analysen oppnås fra veneblodprøver etter følgende retningslinjer:

- Voksne og barn over 2 år gamle: ett litiumheparinisert prøverør
- Barn inntil 2 år gamle: ett 2 ml pediatriprøverør

Reagenspreparering

T-Cell *Xtend*-reagenset leveres ferdig til bruk. Ingen reagenspreparering er nødvendig.



Figur 1: Diagram som viser hvordan T-Cell *Xtend*-reagenset bør inkorporeres i en ELISPOT-protokoll for bruk av lagret/transportert helblod opptil 32 timer etter venepunksjon.

Metodens begrensninger

1. T-Cell *Xtend*-reagenset er til hjelp i diagnostikken. Analyseresultater må tolkes i sammenheng med resultatene av den diagnostiske test som blir brukt.

Kvalitetskontroll

Tester som er gjennomført med T-Cell *Xtend*-reagenset har ikke vist noen signifikant nedgang i PBMC-utbytte eller T-cellepopulasjoner når en sammenlikner helblodprøver lagret mindre enn 8 timer etter venepunksjon med helblodprøver lagret opptil 32 timer og som er behandlet med T-Cell *Xtend*-reagenset. Som en del av det enkelte laboratoriums kvalitetskontrollarbeid, bør celledellingsmetoder være utarbeidet og verifisert for å sikre at tilstrekkelig PBMC er oppsamlet for det aktuelle testsystem. I tillegg må kvalitetskontrollarbeidet benytte bruk av positive og negative kontroller som er utviklet for å sikre den forventede funksjon av T-celler i det relevante testsystem.

Ytelse

Kliniske studier ble utført med og uten T-Cell *Xtend*-reagenset tilsatt før celleseparering for behandling av helblod med en ELISPOT-analyse (T-SPOT®. *TB*-analyse) og lagret opp til 32 timer etter venepunksjon.

En samlet konklusjon av de kliniske studiedataene (3 steder) mellom T-SPOT. *TB*-analyse med og uten T-Cell *Xtend*-reagenset var 96,6 % (340/352) [95 % konfidensintervall 94,1-98,2 %]

Rapportering av alvorlige hendelser

Dersom en alvorlig hendelse har forekommet i forbindelse med denne enheten, skal den rapporteres til kundeservice. I EU-medlemsland skal alvorlige hendelser også rapporteres til den kompetente myndigheten (regjeringsdepartementet som er ansvarlig for in vitro-diagnostiske medisinske enheter) i landet ditt. Se din regjerings nettsted for informasjon om hvordan du skal få kontakt med dine kompetente myndigheter. En «alvorlige hendelse» betyr en hvilken som helst hendelse som direkte eller indirekte førte til, kan ha ført til eller kan føre til:

- dødsfall av en pasient, bruker eller annen;
- midlertidig eller permanent alvorlig svekkelse av en pasients, brukers eller annen persons helsetilstand;
- en alvorlig trussel mot folkehelsen.

Kontaktinformasjon for kundeservice

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

For produktsupportnedlastinger og annen teknisk informasjon, se nettstedet vårt:
www.oxfordimmunotec.com











Veiledning for feilsøking ved preparering av PBMC for ELISPOT

Problem	Potensiell årsak	Mulig løsning
Lavt celleutbytte	<p>Leukopeni</p> <p>Feilaktig blodprøvetaking</p> <p>Blodprøverør har ikke omgivende romtemperatur (18-25 °C)</p> <p>Lagring av blod er ikke ved 10-25 °C</p> <p>Lagringstiden for blodet er over anbefalt tid</p>	<p>Bruk et ekstra blodprøverør</p> <p>Ikke bruk celleprepareringsrør (CPT, Becton Dickinson) eller blodprøverør som inneholder antikoagulanten EDTA</p> <p>Kontroller at blodprøverørene har kommet i likevekt med romtemperatur før prøvetaking</p> <p>Kontroller at blodet transporteres ved 10-25 °C</p> <p>Ta en ny blodprøve og gjenta testen</p>
Kontaminering av røde blodceller	<p>Blodprøverør har ikke omgivende romtemperatur (18-25 °C)</p> <p>Ikke korrekt sentrifugering</p>	<p>Kontroller at blodprøverørene har kommet i likevekt med romtemperatur før prøvetaking</p> <p>Øk sentrifugeringstiden til 30 minutter</p> <p>Kontroller at sentrifugen har kjøling</p> <p>Kontroller at sentrifugen har en brems som virker som den skal og at disse trinnene utføres i henhold til produsentens instruksjoner for FICOLL-separering</p>
Ikke noe tydelig eller definert sjikt av mononukleære periferiere celler	<p>Sentrifugen er ikke korrekt kalibrert</p> <p>Sentrifugehastigheten er for lav</p> <p>Sentrifugeringstiden er for kort</p> <p>Hyperlipemisk prøve</p>	<p>Sentrifugen må kalibreres</p> <p>Øk sentrifugehastigheten til den gir 1500-1800 RCF (g)</p> <p>Øk sentrifugeringstiden til 30 minutter</p> <p>Ta blodprøver ved faste</p>
Ugyldige resultater	Ugyldige resultater kan forårsakes av mange ulike feilaktige prøvetakingsmåter	Se punktene ovenfor

Litteraturreferanser

1. NCCL prosedyre H3-A5, prosedyrer for prøvetaking av diagnostiske blodprøver ved venepunksjon.

Oversikt over symboler

	Brukes innen /utløpsdato (år/måned/dag)
	Lotnummer
	Katalognummer
	NB!. Se bruksanvisningen.
	Produsent
	Tilstrekkelig til "n" tester
	Utstyr til <i>in vitro</i> diagnostikk
	Temperaturbegrensning/lagres mellom
	Se bruksanvisningen
	EU-autorisert representant

T-SPOT, T-Cell *Xtend* og Oxford Immunotec-logoen er varemerker for Oxford Immunotec Limited. CPT og Vacutainer er varemerker for Becton, Dickinson and Company. Ficoll og Ficoll-Paque er registrerte varemerker for Cytiva, en tilknyttet part av Global Life Sciences Solutions USA. Accuspin er et varemerke for Sigma-Aldrich.

Bruken av av T-Cell *Xtend*-reagenset er beskyttet av følgende patenter og patentsøknader: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2024, Oxford Immunotec Med enerett.

■ Manufacturer:

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

 EU-autorisert representant:

Wallac Oy
Mustionkatu 6,
FI-20750 Turku,
Finland

Revisjonsnummer	Utgivelsesdato	Endringer
1 - 6	Detaljer fås på henvendelse til Oxford Immunotec.	
7	Juni 2022	Endring av produsentadresse. Tilsetning av revisjonshistorikk. Tilsetning av instruksjoner for å rapportere alvorlige hendelser, EC REP og EU-importørdetaljer.
8	oktober 2022	Slett EU-importørdetaljer. Tillegg av patentdetaljer CN101529221.
9	November 2023	Fjerning av "a PerkinElmer company" fra logoen
10	September 2024	Endring av autorisert representant i EU



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