

T-Cell Xtend[®]



Do stosowania w przygotowaniu i izolowaniu oczyszczonych limfocytów bezpośrednio z krwi pełnej

ULOTKA INFORMACYJNA

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

Niniejsza ulotka informacyjna zawiera informacje na temat stosowania:

T-Cell Xtend (numer katalogowy: TTK.610)

Przeznaczenie

Odczynnik T-Cell *Xtend* jest przeznaczony do przygotowywania limfocytów T oczyszczonych z próbek krwi pełnej. Odczynnik umożliwi laboratorium odizolowanie limfocytów od krwi pełnej w przeciągu maksymalnie 32 godzin od nakłucia żyły w celu przeprowadzenia oznaczenia za pomocą dostępnej w handlu procedury ELISPOT.

Wprowadzenie

Zasadniczo techniki ELISPOT zostały zwalidowane do przetwarzania próbek krwi w ciągu 8 godzin od nakłucia żyły. Ten czas obchodzenia się z krwią może mieć wpływ na personel laboratorium i procedury, ograniczając przepływ pracy w celu przeprowadzenia oznaczenia. Włączenie odczynnika T-Cell *Xtend* do procesu ELISPOT prowadzi do zwiększenia dyspozycyjności laboratorium. Próbkę krwi można wysyłać i/lub przechowywać przez noc bez wpływu na funkcję lub wydajność limfocytów T.

Zasada metody

Zastosowanie odczynnika T-Cell *Xtend* jako pomocy w separacji limfocytów od krwi pełnej poprawia logistykę przetwarzania oznaczeń ELISPOT z przechowywanymi próbkami. Limfocyty T wyizolowane z krwi pełnej przechowywanej przez noc wykazują zmniejszoną odpowiedź na stymulację antygenową w oznaczeniach ELISPOT, ale jest to głównie spowodowane zanieczyszczeniem populacji komórek w warstwie jednojądrzastych komórek krwi obwodowej (PBMC, ang. *peripheral blood mononuclear cells*). Odczynnik T-Cell *Xtend* zawiera bispecyficzne przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko markerom powierzchniowym komórek na wybranych inhibitorowych krwinkach białych i krwinkach czerwonych. Odczynnik T-Cell *Xtend* łączy wybrane krwinki białe z krwinkami czerwonymi, co zwiększa gęstość wybranych komórek. Gdy podczas ekstrakcji FICOLL stosowany jest gradient gęstości, wybrane krwinki białe pozostają oddzielone w warstwie krwinek czerwonych z dala od warstwy komórek PBMC. Komórki, które nie zostały wybrane, w tym limfocyty T i komórki prezentujące antygen, znajdują się w warstwie komórek PBMC. Badania wykazały, że funkcjonalność limfocytów T, przygotowanych przy użyciu odczynnika T-Cell *Xtend* po przechowaniu krwi przez noc, jest porównywalna z funkcjonalnością limfocytów T otrzymywanych ze świeżej krwi.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
2. Wyłącznie do użytku przez fachowy personel; użytkownicy muszą zostać przeszkoleni w zakresie tej procedury.
3. Próbkę krwi należy traktować jako potencjalnie niebezpieczne. Podczas pracy z materiałem pochodzenia ludzkiego należy zachować ostrożność.
4. Praca z próbkami krwi pełnej i komponentami oznaczeń podczas stosowania, przechowywania i utylizacji powinna odbywać się zgodnie z procedurami określonymi w odpowiednich krajowych wytycznych lub przepisach dotyczących bezpieczeństwa w zakresie zagrożenia biologicznego.
5. Wszelkie odstępstwa od zalecanych procedur pipetowania, technik mycia, czasów i/lub temperatur inkubacji mogą wpłynąć na wyniki testów.
6. Nie należy pobierać krwi do probówek do separacji komórek (CPT™, Becton Dickinson) ani probówek do pobierania krwi EDTA, ponieważ są one niekompatybilne z odczynnikiem T-Cell *Xtend*.
7. Nie chłodzić ani nie zamrażać próbek krwi pełnej. Próbkę krwi należy przechowywać i transportować do laboratorium w temperaturze 10–25°C.
8. Przed przystąpieniem do przetwarzania próbki do krwi pełnej należy dodać odczynnik T-Cell *Xtend*.
9. Nie należy rozcieńczać ani dodawać innych składników bezpośrednio do odczynnika T-Cell *Xtend*.
10. Do pobierania próbek krwi żyłnej należy używać wyłącznie pojemników jednorazowego użytku.
11. Nie mieszać różnych serii w jednej próbce pacjenta.
12. Nie stosować po upływie terminu ważności.
13. Nie używać z próbką krwi pełnej, która była przechowywana ponad 32 godziny.
14. Podczas używania tego produktu należy stosować techniki aseptyczne.
15. Nie używać, jeśli fiolki wydają się być uszkodzone lub otwarte przy pierwszym użyciu.
16. Nie używać, jeśli płyn w fiolkach wygląda na przebarwiony lub zawiera osad.
17. Odczynnik T-Cell *Xtend* zawiera substancje pochodzenia zwierzęcego, które są potencjalnie zakaźne. W normalnych warunkach użytkowania substancje te nie wchodzi w kontakt z użytkownikiem.

Dostarczane materiały

Każde pudełko zawiera:

Trzy (3) fiołki o pojemności 2 ml zawierające przeciwciała monoklonalne T-Cell *Xtend* (TT.610).

Przechowywanie i stabilność

Nieotwarte fiołki z odczynnikiem T-Cell *Xtend* należy przechowywać w temperaturze 2–8°C do upływu terminu ważności podanego na opakowaniu. Fiołki otwarte i ponownie zamknięte przechowywać w temperaturze 2–8°C i zużyć w ciągu 12 tygodni od otwarcia, chyba że okres ten przekracza datę ważności podaną na opakowaniu.

Wymagane wyposażenie i materiały, które nie są dostarczone

1. Probówki z heparyną do pobierania krwi.
2. FICOLL lub alternatywne materiały do separacji komórek PBMC, tj. probówki Accuspin™ i Leucosep.
3. Wirówka do izolowania komórek PBMC o względnej sile odśrodkowej co najmniej 1800 RCF (g) i zdolna do utrzymania próbek w temperaturze pokojowej (18–25°C), jeżeli stosowane są metody wirowania w gradiencie gęstości od odseparowania komórek PBMC.
4. Komora laminarna II klasy bezpieczeństwa biologicznego (BL 2) (zalecana).
5. Pipety i sterylne końcówki do pipet.
6. Zestaw ELISPOT.

Procedura

Uwaga: Poniższe czynności należy wykonać zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej:

1. Krew pełną pobrać do probówek z heparyną litową i przechowywać przez maksymalnie 32 godziny w temperaturze 10–25°C.
2. Bezpośrednio przed użyciem w dostępnym w handlu oznaczeniu ELISPOT dodać 25 µl odczynnika T-Cell *Xtend* na jeden mililitr krwi pełnej, zdejmując zatyczkę z probówki i pipetując ją w zalecanej objętości.
3. Założyć z powrotem zatyczkę i delikatnie odwrócić probówkę do pobierania krwi od 8 do 10 razy.
4. Inkubować krew pełną z odczynnikiem T-Cell *Xtend* przez 20 ±5 minut w temperaturze otoczenia (18–25°C).
5. Odizolować frakcję komórek PBMC przy użyciu wirowania w gradiencie gęstości FICOLL lub alternatywnej metody izolowania komórek PBMC.
6. Przygotować komórki PBMC do oznaczenia ELISPOT zgodnie z instrukcją obsługi dostarczoną przez producenta zestawu ELISPOT.

Uwaga: Poszczególne laboratoria powinny zwalidować swoje procedury pobierania i separacji komórek PBMC w celu uzyskania wystarczającej liczby. Zaleca się, aby:

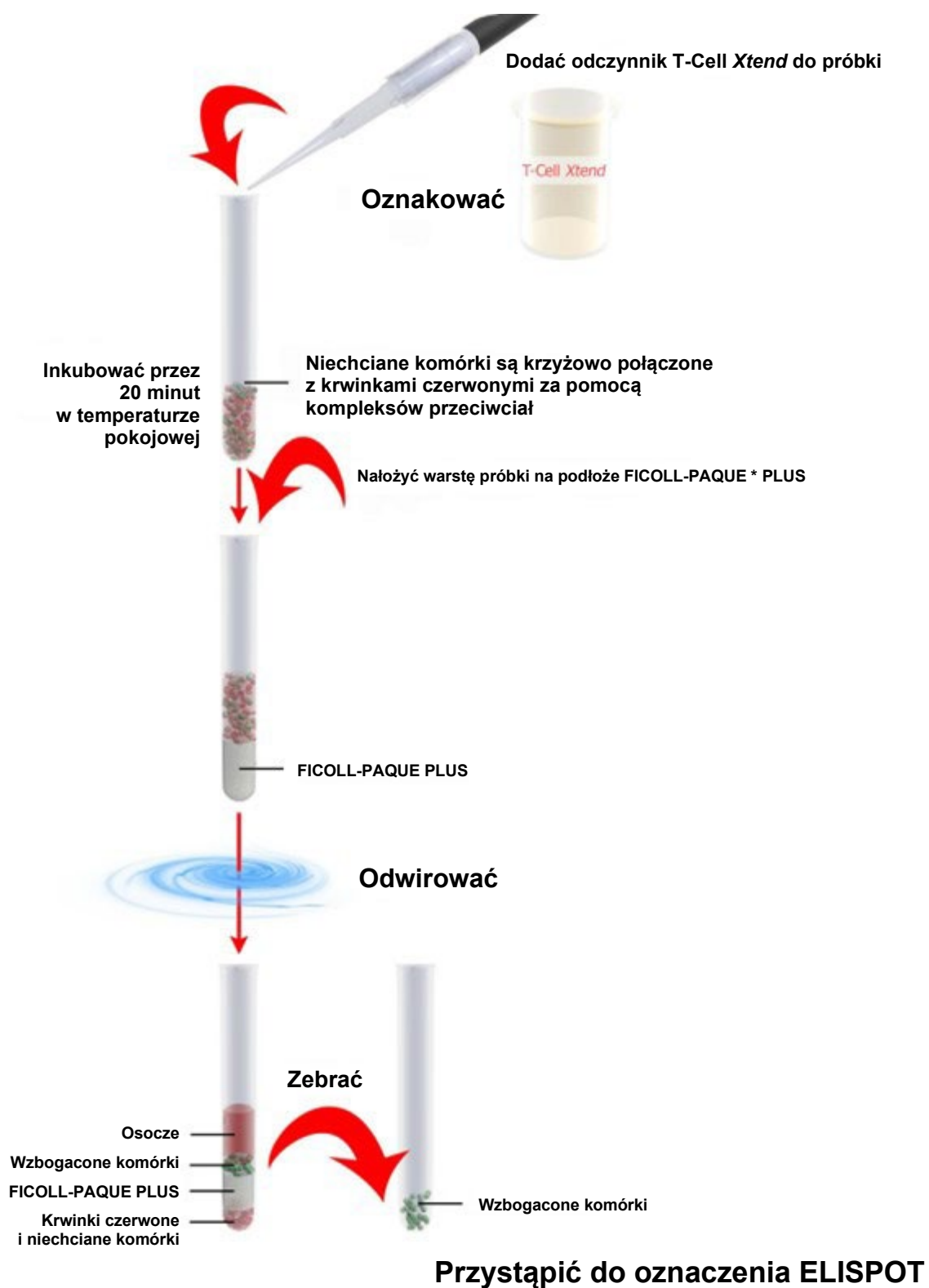
- Próbkę krwi były pobierane do probówek z heparyną litową, a następnie komórki PBMC rozdzielane za pomocą standardowych technik separacji, takich jak FICOLL w gradiencie gęstości. W razie potrzeby można zastosować alternatywne metody oczyszczania frakcji komórek PBMC, np. probówki Accuspin lub Leucosep wstępnie wypełnione płynem FICOLL.
- Komórki pacjenta można w razie potrzeby połączyć w pulę, aby uzyskać wystarczającą liczbę komórek z wielu probówek krwi, które zostały jednocześnie pobrane i przetworzone.

Zazwyczaj w przypadku pacjenta immunokompetentnego ilość komórek PBMC wystarczającą do wykonania oznaczenia można uzyskać z próbek krwi żyłnej zgodnie z następującymi wytycznymi:

- Dorośli i dzieci powyżej 2. r.ż.: jedna probówka z heparyną litową o pojemności 6 ml
- Dzieci do 2. r.ż.: jedna probówka pediatryczna o pojemności 2 ml

Przygotowanie odczynnika

Odczynnik T-Cell Xtend jest dostarczany jako gotowy do użycia. Nie jest wymagane przygotowanie odczynnika.



Rycina 1: Schemat przedstawiający sposób włączenia odczynnika T-Cell Xtend do protokołu ELISPOT w przypadku przechowywania/wysyłki krwi pełnej maksymalnie do 32 godzin po nakłuciu żyły.

Ograniczenia

1. Odczynnik T-Cell *Xtend* stanowi pomoc diagnostyczną. Wyniki testu należy interpretować w połączeniu z wynikami wykorzystywanego testu diagnostycznego.

Kontrola jakości

Testy wewnętrzne odczynnika T-Cell *Xtend* nie wykazały znaczącego spadku wydajności komórek PBMC ani populacji limfocytów T podczas porównywania próbek krwi pełnej przechowywanych przez mniej niż 8 godzin po nakłuciu żyły z próbkami krwi pełnej przechowywanymi przez maksymalnie do 32 godzin po poddaniu działaniu odczynnika T-Cell *Xtend*. W ramach indywidualnej laboratoryjnej kontroli jakości metody liczenia komórek powinny być opracowane i zwalidowane w celu zapewnienia, że uzyskano wystarczającą ilość komórek PBMC dla odpowiedniego systemu badań. Ponadto działania w zakresie kontroli jakości powinny wykorzystywać kontrole dodatnie i ujemne opracowane w celu zapewnienia oczekiwanej wydajności limfocytów T w odpowiednim systemie badań.

Charakterystyka działania

Przeprowadzono badania kliniczne z dodaniem odczynnika T-Cell *Xtend* i bez jego dodania przed separacją komórek do przetwarzania próbek krwi pełnej za pomocą oznaczenia ELISPOT (test T-SPOT®.TB) przechowywanych przez maksymalnie do 32 godziny po nakłuciu żyły.

Ogólna zgodność danych z badania klinicznego (3 ośrodki) pomiędzy testem T-SPOT.TB z odczynnikiem T-Cell *Xtend* i bez niego wyniosła 96,6% (340/352) [95% CI 94,1–98,2%].

Zgłaszanie poważnych incydentów

W przypadku wystąpienia poważnego incydentu związanego ze stosowaniem tego wyrobu należy go zgłosić do działu obsługi klienta. W państwach członkowskich Unii Europejskiej poważne incydenty należy również zgłaszać właściwemu organowi (rządowemu wydziałowi odpowiedzialnemu za wyroby medyczne do diagnostyki *in vitro*) w danym kraju. Szczegółowe informacje na temat tego, jak skontaktować się z właściwym organem, można znaleźć na rządowej stronie internetowej. „Poważny incydent” oznacza każdy incydent, który bezpośrednio lub pośrednio doprowadził, mógł doprowadzić lub może prowadzić do:

- zgonu pacjenta, użytkownika lub innej osoby;
- tymczasowego lub trwałego poważnego pogorszenia stanu zdrowia pacjenta, użytkownika lub innej osoby;
- poważnego zagrożenia dla zdrowia publicznego.

Dane kontaktowe działu obsługi klienta

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

Aby uzyskać pomoc techniczną dotyczącą produktu, pliki do pobrania i dalsze informacje techniczne, prosimy odwiedzić naszą stronę internetową: www.oxfordimmunotec.com











Wskazówki dotyczące rozwiązywania problemów w przygotowaniu komórek PBMC do oznaczenia ELISPOT

Problem	Potencjalna przyczyna	Możliwe rozwiązanie
Niski uzysk komórek	<p>Leukopenia</p> <p>Nieprawidłowe pobranie krwi</p> <p>Probówka do pobierania krwi nie ma temperatury pokojowej (18–25°C)</p> <p>Przechowywanie krwi nie odbywa się w temperaturze 10–25°C.</p> <p>Przechowywanie krwi trwa dłużej niż zalecany czas</p>	<p>Dodać kolejną probówkę do pobierania krwi</p> <p>Nie używać probówek do separacji komórek (CPT, Becton Dickinson) ani probówek do pobierania krwi zawierających antykoagulant EDTA</p> <p>Przed pobraniem próbki upewnić się, że probówka do pobierania krwi osiągała temperaturę pokojową</p> <p>Upewnić się, że krew do wysyłki ma temperaturę 10-25°C</p> <p>Pobrać kolejną próbkę krwi i powtórzyć test</p>
Zanieczyszczenie krwinek czerwonych	<p>Probówka do pobierania krwi nie ma temperatury pokojowej (18–25°C)</p> <p>Nieprawidłowe wirowanie</p>	<p>Przed pobraniem próbki upewnić się, że probówka do pobierania krwi osiągała temperaturę pokojową</p> <p>Wydłużyć czas wirowania do 30 minut</p> <p>Sprawdzić, czy wirówka jest chłodzona</p> <p>Sprawdzić, czy wirówka jest wyposażona w działający hamulec i upewnić się, że czynności te są wykonywane zgodnie z instrukcjami producenta dotyczącymi separacji FICOLL</p>
Brak wyodrębnionej lub wyraźnej warstwy jednojądrzastej	<p>Wirówka nie jest prawidłowo skalibrowana</p> <p>Zbyt niska prędkość wirówki</p> <p>Czas wirowania jest zbyt krótki;</p> <p>Próbka hiperlipemiczna</p>	<p>Przeprowadzić kalibrację wirówki</p> <p>Zwiększyć prędkość wirówki, aby uzyskać 1500–1800 RCF</p> <p>Wydłużyć czas wirowania do 30 minut</p> <p>Pobrać próbkę krwi na czczo</p>
Nieprawidłowe wyniki	Nieprawidłowe wyniki mogą być spowodowane przez kilka problemów związanych z nieprawidłowym obchodzeniem się z próbkami	Zapoznać się z powyższymi punktami

Piśmiennictwo

1. NCCLs procedure H3 – A5, Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venepuncture [Procedura National Committee for Clinical Laboratory Standards (Krajowego Komitetu ds. Laboratoryjnych Norm Klinicznych) Procedury pobierania próbek krwi do celów diagnostycznych przez nakłucie żyły]

Słownik symboli

	Termin ważności (rok-miesiąc-dzień)
	Numer serii
	Numer katalogowy
	Uwaga, patrz instrukcja obsługi
	Wytwórca
	Wystarcza do przeprowadzenia „n” testów
	wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Ograniczenie temperatury/Przechowywać pomiędzy
	Zapoznać się z instrukcją obsługi
	Autoryzowany przedstawiciel w UE


Logotypy T-SPOT, T-Cell *Xtend* i Oxford Immunotec są znakami towarowymi firmy Oxford Immunotec Limited. CPT i Vacutainer są znakami towarowymi firmy Becton, Dickinson and Company. Ficoll i Ficoll-Paque są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Cytiva, będącej spółką stowarzyszoną Global Life Sciences Solutions USA LLC. Accuspin jest znakiem towarowym firmy Sigma-Aldrich.

Stosowanie odczynnika T-Cell *Xtend* jest chronione następującymi patentami i zgłoszonymi patentami: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023 Oxford Immunotec. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Wytwórca:

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

 Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej: Oxford Immunotec (Irlandia)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Republika Irlandii

Numer wersji	Data wydania	Modyfikacje
1-7	Szczegóły dostępne na życzenie w Oxford Immunotec.	
8	Sierpień 2023	Pierwsze tłumaczenie j TT.610-PI-UK-V8



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



www.oxfordimmunotec.com