

T-Cell Xtend[®]



Pre prípravu a izoláciu purifikovaných lymfocytov
priamo z plnej krvi

Príbalový leták

Pre *In Vitro* diagnostiku

Tento príbalový leták sa týka použitia reagensie:

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

Použitie

T-Cell *Xtend* reagencia je určená na prípravu purifikovaných T buniek z plnej krvi. Reagencia umožňuje laboratóriám izoláciu lymfocytov z plnej krvi až do 32 hodín od venepunkcie (odberu venózneho krvi) pre účely komerčného ELISPOT testu.

Úvod

Všeobecne, bolo overené, že u ELISPOT technik by mala byť krvná vzorka spracovaná do 8 hodín od venózneho odberu. Toto časové obmedzenie pre spracovanie krvi môže narúšať chod laboratória z hľadiska hladkého priebehu vyšetrenia takýmito testami. Použitie reagentu T-Cell *Xtend* reagentu v ELISPOT teste umožňuje flexibilitu a lepšiu organizáciu laboratórnej práce. Vzorky krvi môžu byť dopravené a/alebo skladované cez noc bez vplyvu na funkciu T buniek alebo na vyšetrenie.

Princíp metódy

Použitie T-Cell *Xtend* reagentu ako pomôcky pri separácii lymfocytov z plnej krvi, vylepšuje logistiku práce so vzorkami určenými na ELISPOT vyšetrenie. T bunky izolované z plnej krvi a skladované cez noc, vykazujú zníženú odpovedavosť na stimuláciu antigénmi pri ELISPOT teste. Toto je primárne spôsobené prítomnosťou kontaminujúcich buniek v prstenci mononukleárných buniek izolovaných z plnej krvi (Peripheral Blood Mononuclear Cells - PBMCs). T-Cell *Xtend* reagent obsahuje bišpecifické monoklonálne protilátky namierené proti povrchovým znakom na vybraných leukocytoch a erytrocytoch. T-Cell *Xtend* reagent vyviaže krížovou väzbou vybrané leukocyty s erytrocytmi, čo zvýši centrifugačný koeficient týchto vybraných buniek. Po aplikácii vzorky na hustotný gradient počas extrakcie na FICOLL sa tieto leukocyty separujú do vrstvy erytrocytov mimo vrstvu PMBC buniek. Ostatné neoznačené bunky vrátane T lymfocytov a antigén prezentujúcich buniek sú obsiahnuté vo vrstve PBMC buniek. Štúdie preukázali, že funkčné vlastnosti T buniek, pripravené s pomocou T-Cell *Xtend* reagentu, po skladovaní krvi cez noc, sú porovnateľné s bunkami, ktoré boli pripravené z čerstvej vzorky krvi.

Výstrahy a bezpečnostné upozornenia

1. Určené len pre *in vitro* diagnostiku
2. Určené pre profesionálne použitie (techniku môže používať len zaškolený personál)
3. Všetky vzorky krvi by mali byť považované za potenciálne infekčné. Pri spracovaní materiálu ľudského pôvodu je potrebná opatrnosť
4. Práca so vzorkami krvi a zložkami testu, ich používanie, skladovanie a likvidovanie musí byť v súhlase s bezpečnostnými postupmi a pravidlami, ktoré sú definované v jednotlivých krajinách
5. Akákoľvek odchýlka od odporúčaných postupov pipetovania, premývania, inkubačného času a/alebo teploty môže mať vplyv na výsledky testu
6. Neodoberajte krv do odberových CPT skúmaviek (CPT™ Becton Dickinson), alebo do EDTA skúmaviek, sú nekompatibilné s T-Cell *Xtend* reagentom
7. Vzorky krvi neuchovávajte v chlade a nemrazte. Skladujte a dopravujte vzorky krvi do laboratória v rozsahu 10–25 °C
8. Pridajte T-Cell *Xtend* reagent k plnej krvi pred spracovaním vzorky
9. T-Cell *Xtend* reagentu nenariedajte a nepridávajte k reagentu iné látky
10. Pre odber venózneho krvi používajte jednorázový odberový materiál
11. Nemiešajte rôzne šarže reagentu pre jednotlivú patientskú vzorku
12. Nepoužívajte po uplynutí expiračnej doby
13. Nepoužívajte v prípade, že daná vzorka krvi bola skladovaná viac ako 32 hodín
14. Pri využívaní produktu používajte aseptickú techniku práce
15. Nepoužívajte, ak sa nádoby zdajú poškodené alebo už sú otvorené.
16. Nepoužívajte, ak sa tekutina v nádobkách zdá zafarbená alebo obsahuje usadeninu.
17. Reagent T-Cell *Xtend* obsahuje látky živočíšneho pôvodu, ktoré sú potenciálne infekčné. Za normálnych podmienok používania tieto látky neprichádzajú do kontaktu s používateľom.

Dodávaný materiál

Každé balenie obsahuje:

Tri (3) 2 mL nádoby T-Cell *Xtend* s monoklonálnymi protilátkami (TT.610).

Skladovanie a Stabilita

Skladujte neotvorené nádoby T-Cell *Xtend* reagentie pri 2–8 °C až do expiračnej doby vyznačenej na obale. Skladujte otvorené a znovu uzatvorené nádoby pri 2–8 °C a používajte len po dobu 12 týždňov od otvorenia nádoby, nie však dlhšie ako do expiračnej doby vyznačenej na obale.

Potrebný materiál a vybavenie (nedodávané)

1. Heparinizované skúmavky na odber krvi
2. FICOLL alebo alternatívny separačný materiál, napr. skúmavky Accuspin™ a Leucosep (na gradientovú izoláciu mononukleárných buniek)
3. Centrifúga pre prípravu PBMCs buniek s možnosťou centrifugácie najmenej pri 1800xg a schopná udržať vzorky pri izbovej teplote (18–25 °C) pri gradientovej izolácii mononukleárných buniek
4. Laminárny box Biohazard triedy II (odporúčané)
5. Pipety a sterilné pipetovacie špičky
6. ELISPOT súprava

Postup

Poznámka: Nasledujúce pracovné kroky by mali byť vykonávané v súlade so zásadami Správnej Laboratórnej Praxe (GLP) :

1. Odoberte vzorku krvi do litium-heparínovej skúmavky a uchovávajte ju pri 10–25 °C po dobu maximálne 32 hodín
2. Bezprostredne pred použitím v komerčnom ELISPOT teste, pridajte 25 µL reagentie T-Cell *Xtend* na každý mililiter vzorky plnej krvi priamo do otvorenej odberovej skúmavky
3. Skúmavku znovu uzavrite vrchnákom a jemne premiešajte vzorku pretáčaním skúmavky hore dnom (prevracaním) asi 8 až 10 krát
4. Inkubujte vzorku plnej krvi s pridanou T-Cell *Xtend* reagentiou po dobu 20 ±5 minút pri izbovej teplote (18–25 °C)
5. Izolujte frakciu mononukleárných buniek (PBMCs) cetrifugáciou na hustotnom gradiente FICOLL, alebo alternatívnou izolačnou metódou
6. Pripravte PBMCs bunky pre ELISPOT test podľa pracovného návodu výrobcu súpravy

Poznámka: Jednotlivé laboratória by si mali overiť postupy odberu a izolácie dostatočného počtu mononukleárných buniek (PBMCs). Odporúčania:

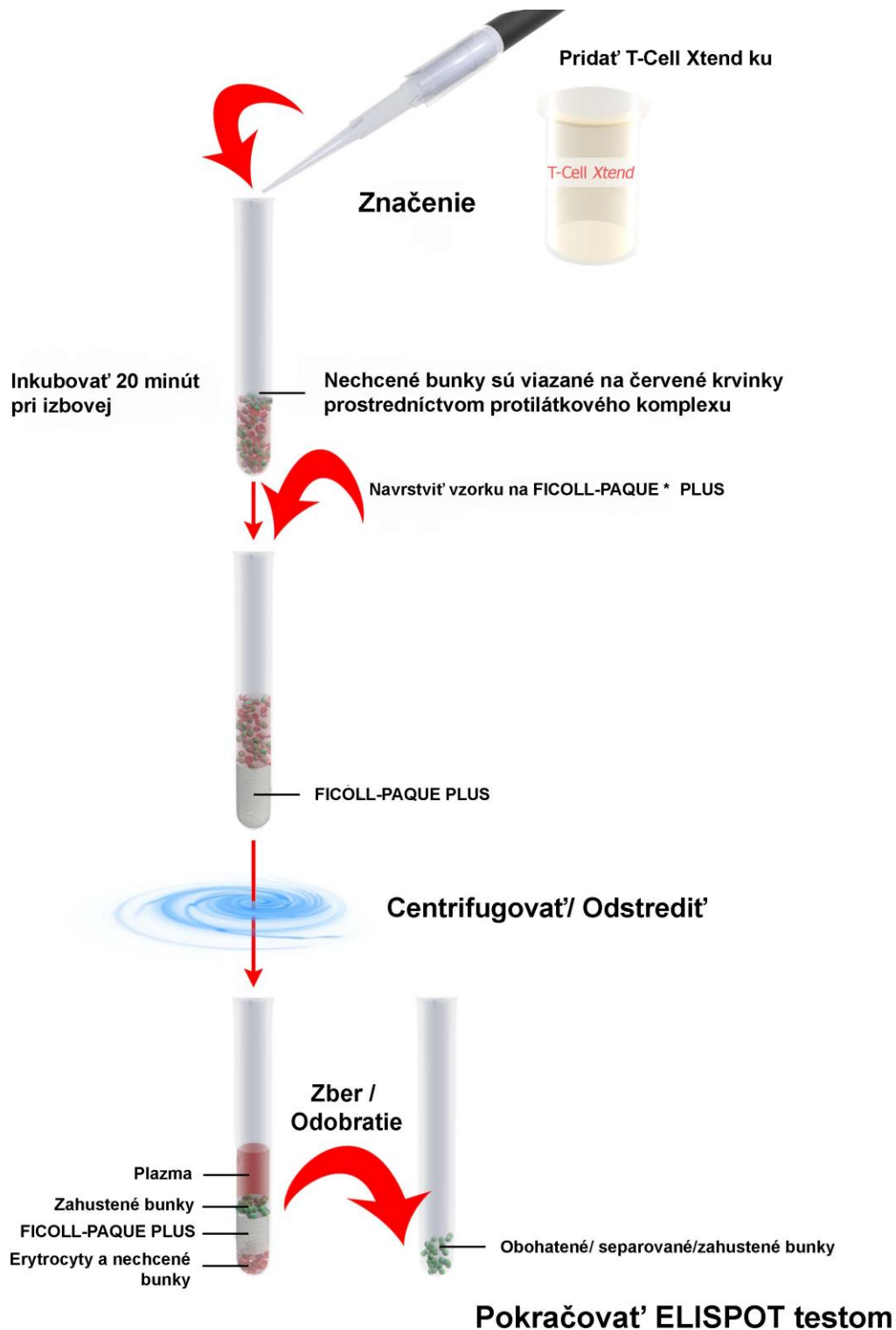
- Odber krvi do Lítium-heparínových skúmaviek s následnou separáciou mononukleárných buniek technikou izolácie na hustotnom gradiente napr. FICOLL metóda. Možno využiť aj alternatívne metódy purifikácie mononukleárnej frakcie ako napr. Accuspin, alebo Leucosep, teda hotové skúmavky s náplňou FICOLL.
- Kvôli zaisteniu dostatočného množstva mononukleárných buniek, môžu byť tieto zmiešané po spracovaní z viacerých odberových skúmaviek, ak boli tieto paralelne odobrané a spracované.

Typicky, pre imunokompetentného pacienta, kvôli získaniu dostatočného množstva mononukleárných buniek do testu, je potrebné urobiť odber krvi podľa nasledovného návodu:

- Dospelí a deti vo veku viac ako 2 roky: jedna 6 mL Li-heparín skúmavka
- Deti vo veku do 2 rokov: jedna 2 mL pediatrická skúmavka

Príprava reagensie

T-Cell *Xtend* reagentia je dodávaná hotová, pripravená pre priame použitie. Nie je potrebná žiadna príprava reagensie.



Obrázok 1: Schéma (diagram) použitia T-Cell *Xtend* reagensie v ELISPOT teste pri plnej krvi skladovanej / transportovanej do 32 hodín po venóznom odbere vzorky.

Obmedzenia

1. T-Cell *Xtend* reagencia je diagnostická pomôcka. Výsledky vyšetrenia by mali byť interpretované v súlade s výsledkami použitého diagnostického testu.

Kontrola Kvality

Pri testovaní T-Cell *Xtend* reagencie výrobcom nebol preukázaný významný pokles vo výťažku mononukleárných buniek (PBMC) ani subpopulácii T buniek pri porovnaní vzoriek plnej krvi uchovávaných do 8 hodín od odberu a krvných vzoriek uchovávaných do 32 hodín od odberu a spracovaných pomocou reagencie T-Cell *Xtend*. Súčasťou kontroly kvality v laboratóriu by mala byť validácia meraní počtu buniek s cieľom overiť získanie dostatočného počtu buniek pre správne vykonanie testu. Súčasťou kontroly kvality v správne vykonanom teste je používanie pozitívnej a negatívnej kontroly pre overenie očakávanej funkčnosti T buniek.

Charakteristika účinnosti reagencie

Boli vykonané klinické štúdie s použitím a bez použitia T-Cell *Xtend* reagencie pridanej k plnej krvi bezprostredne pred separáciou, pri príprave vzoriek pre účely ELISPOT vyšetrenia (T-SPOT®.TB assay) a skladovaných do 32 hodín po venepunkcii.

Celková zhoda v klinických štúdiách (3 pracoviská) medzi T-SPOT.TB vyšetrením pri použití a bez použitia T-Cell *Xtend* reagencie bol 96,6 % (340/352) [95 % CI 94,1–98,2 %].

Hlásenie závažných incidentov

Ak sa vyskytne závažný incident súvisiaci s touto pomôckou, musí sa oznámiť oddeleniu služieb zákazníkom. V členských štátoch Európskej únie sa závažné incidenty musia oznámiť aj príslušnému orgánu (štátny úrad zodpovedný za zdravotnícke pomôcky na diagnostiku *in vitro*) v danej krajine. Podrobnosti o kontaktovaní príslušného orgánu nájdete na webovej lokalite svojej vlády. „Závažný incident“ znamená akýkoľvek incident, ktorý priamo alebo nepriamo viedol, mohol viesť alebo by mohol viesť k:

- smrti pacienta, používateľa alebo inej osoby,
- dočasnému alebo trvalému závažnému zhoršeniu zdravotného stavu pacienta, používateľa alebo inej osoby,
- závažnému ohrozeniu verejného zdravia.

Kontaktné údaje oddelenia služieb zákazníkom

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

Podporné súbory na stiahnutie a ďalšie technické informácie pre tento produkt nájdete na našej webovej lokalite: www.oxfordimmunotec.com











Riešenie problémov pri príprave mononukleárnych buniek pre ELISPOT

Problém	Možná príčina	Možné riešenie
Malý výťažok buniek	<p>Leukopénia</p> <p>Nesprávny odber krvi</p> <p>Odberová skúmavka nemá izbovú teplotu (18–25 °C)</p> <p>Skladovanie krvi nie je pri (10–25 °C)</p> <p>Skladovanie krvi dlhšie ako odporúčaný čas</p>	<p>Pridať navyše ďalšiu skúmavku pri odbere krvi</p> <p>Nepoužívať odberové skúmavky Cell Preparation Tubes (CPT, Becton Dickinson), alebo odberové skúmavky obsahujúce ako antikoagulant EDTA</p> <p>Overiť, že odberové skúmavky sú vytemperované na izbovú teplotu pred odberom vzorky</p> <p>Overiť, že transport a skladovanie krvi je pri teplote (10–25 °C)</p> <p>Odobrať novú vzorku krvi a opakovať test</p>
Kontaminácia červenými krvinkami	<p>Odberová skúmavka nemá izbovú teplotu (18–25 °C)</p> <p>Nesprávna centrifugácia</p>	<p>Overiť, že odberové skúmavky sú vytemperované na izbovú teplotu pred odberom vzorky</p> <p>Zvýšiť čas centrifugácie na 30 minút</p> <p>Skontrolovať chladenie centrifúgy</p> <p>Skontrolovať či centrifúga nie je brzdená brzdou a uistiť sa, že seprácia na FICOLL je vykonávaná podľa odporúčania výrobcu</p>
Nerozlišiteľná a nejasná mononukleárna vrstva buniek (prstenec)	<p>Centrifúga nie je správne kalibrovaná</p> <p>Otáčky centrifúgy sú príliš nízke</p> <p>Veľmi krátka doba centrifugácie</p> <p>Hyperlipemické vzorky</p>	<p>Kalibrovať centrifúgu</p> <p>Zvýšiť centrifugačnú silu na 1500–1800 x g (RCF)</p> <p>Zvýšiť čas centrifugácie na 30 minút</p> <p>Odber krvnej vzorky nalačno</p>
Invalidné výsledky	Invalidné výsledky môžu byť zapríčinené celým radom nesprávnych krokov pri spracovaní vzorky	Pozrieť predchádzajúce časti návodu

Literárne odkazy

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

Použité symboly (Register symbolov)

	Použiť do/Dátum expirácie (Rok-Mesiac-Deň)
	Číslo Šarže
	Katalógové číslo
	Pozor, pozrieť pracovný návod
	Výrobca
	(Postačujúce) Určené na „n“ testov
	IVD Určené pre in vitro diagnostiku
	Teplotné obmedzenie/Skladujte do (medzi)
	Pozrieť (obrátiť sa na) pracovný návod
	Oprávnený zástupca v EÚ

T-SPOT, T-Cell *Xtend* a logo Oxford Immunotec sú ochranné známky spoločnosti Oxford Immunotec Limited.

CPT a Vacutainer sú ochranné známky spoločnosti Becton, Dickinson and Company.

Ficoll a Ficoll-Paque sú registrované ochranné známky spoločnosti Cytiva, čo je pridružená spoločnosť spoločnosti Global Life Sciences Solutions USA LLC.

Accuspin je ochranná známka spoločnosti Sigma-Aldrich.

Použitie reagensie T-Cell *Xtend* je chránené týmito patentmi a patentovými prihláškami:

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

© 2024, Oxford Immunotec. Všetky práva vyhradené.

🏠 Výrobca:
Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Spojené kráľovstvo
www.oxfordimmunotec.com

EC REP Oprávnený zástupca v EÚ
Wallac Oy
Mustionkatu 6,
FI-20750 Turku,
Fínsko

Číslo revízie	Dátum vydania	Úpravy
1 – 6	Podrobnosti dostupné na požiadanie od spoločnosti Oxford Immunotec.	
7	Jún 2022	Zmena adresy výrobcu. Pridanie histórie revízií. Pridanie pokynov na oznamovanie závažných incidentov, EC REP a dovozca do Európskej únie podrobnosti.
8	Október 2022	Vymazať dovozca do Európskej únie
9	November 2023	Odstránenie "spoločnosti PerkinElmer" z loga
10	September 2024	Zmena splnomocneného zástupcu v EÚ



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



www.oxfordimmunotec.com