

T-Cell Xtend®



Doğrudan tam kandan saflaştırılmış lenfositlerin hazırlanmasında ve izolasyonunda kullanım için

KULLANIM KILAVUZU

In Vitro Tanıda Kullanım İçin

Bu kılavuz, aşağıdakilerin kullanımını kapsar:

T-Cell Xtend (Katalog numarası: TTK.610)

Kullanım amacı

T-Cell *Xtend* reaktifi, tam kandan saflaştırılmış T hücrelerinin hazırlanmasında kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Reaktif, laboratuvarların, ticari bir ELISPOT prosedürüyle test etmek için venepunkturu takiben 32 saate kadar tam kandan lenfositleri izole etmesini sağlayacaktır.

Giriş

Genel olarak ELISPOT teknikleri, venepunkturdan sonraki 8 saat içinde kan numunelerinin işlenmesi için valide edilmiştir. Kan işleme süresiyle ilgili bu sınırlandırma, teste ilişkin iş akışını kısıtlayarak laboratuvar personeli ve prosedürlerini etkileyebilir. T-Cell *Xtend* reaktifinin ELISPOT sürecine dahil edilmesi, laboratuvara daha fazla esneklik sağlar.

Kan numuneleri, T hücresi işlevi veya performansı üzerinde herhangi bir etki olmaksızın gönderilebilir ve/veya gece boyunca saklanabilir.

Yöntem Prensipleri

Tam kandan lenfositlerin ayrılmasına yardımcı olarak T-Cell *Xtend* reaktifinin kullanılması, saklanan numunelerle ELISPOT testi işleminin gerektirdiği lojistik süreci kolaylaştırır. Gece boyunca saklanan tam kandan izole edilen T hücrelerinin, ELISPOT testlerinde antijenlerle stimülasyona azalmış tepkiler gösterdiği görülmektedir, ancak bunun başlıca nedeni, Periferik Kan Mononükleer Hücre (PBMC) katmanındaki kontamine hücre popülasyonlarıdır. T-Cell *Xtend* reaktifi, seçilmiş inhibitör beyaz kan hücreleri ve kırmızı kan hücreleri üzerindeki hücre yüzeyi belirteçlerini hedefleyen bispesifik monoklonal antikorlar içerir. T-Cell *Xtend* reaktifi, seçilen beyaz kan hücrelerini kırmızı kan hücreleriyle çapraz bağlayarak seçilen hücrelerin yoğunluğunu artırır. FICOLL ekstraksiyonu sırasında bir yoğunluk gradyanı uygulandığında, seçilen beyaz kan hücreleri, PBMC katmanından uzaktaki kırmızı kan hücresi katmanında ayrı kalır. T hücreleri ve antijen sunan hücreler dahil olmak üzere seçilmemiş hücreler, PBMC katmanında bulunur. Çalışmalar, kanın gece boyunca saklanmasından sonra T-Cell *Xtend* reaktifi kullanılarak hazırlanan T hücrelerinin işlevselliğinin taze kandan elde edilenle karşılaştırılabilir düzeyde olduğunu göstermiştir.

Uyarılar ve Önlemler

1. Yalnızca in vitro tanıda kullanım içindir.
2. Yalnızca profesyonel kullanım içindir; kullanıcılar bu prosedür konusunda eğitilmelidir.
3. Kan numuneleri potansiyel olarak tehlikeli kabul edilmelidir, insan kaynaklı malzeme ile çalışırken dikkatli olunmalıdır.
4. Kullanım, saklama ve imha sırasında tam kan numunelerinin ve test bileşenlerinin işlenmesi, ilgili ulusal biyolojik tehlike güvenlik yönergeleri veya yönetmeliklerinde tanımlanan prosedürlere uygun olmalıdır.
5. İnkübasyon süreleri ve/veya sıcaklıkları, yıkama teknikleri ve pipetleme için önerilen prosedürlerden herhangi bir sapma test sonuçlarını etkileyebilir.
6. Hücre Hazırlama Tüpleri (CPT™, Becton Dickinson) ve EDTA'lı tüpler T-Cell *Xtend* reaktifi ile uyumsuz olduklarından kanı bu tüplerde toplamayın.
7. Tam kan numunelerini soğutmayın veya dondurmayın. Kan numuneleri saklanırken ve laboratuvara nakledilirken oda sıcaklığında (10-25 °C) tutulmalıdır. Numune işlemeden önce tam kana T-Cell *Xtend* reaktifi ekleyin.
8. T-Cell *Xtend* reaktifini doğrudan seyreltmeyin veya başka bileşenler eklemeyin.
9. Venöz kan numunesi alımı için yalnızca tek kullanımlık kaplar kullanın.
10. Farklı lotları tek bir hasta numunesinde karıştırmayın.
11. Son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
12. 32 saatten fazla saklanmış bir tam kan numunesiyle kullanmayın.
13. Bu ürünü kullanırken aseptik teknikler kullanın.
14. Şişeler hasarlı görünüyorsa veya ilk kullanımda zaten açığa kullanmayın.
16. Şişelerdeki sıvının rengi bozulmuşsa veya sıvı çökelmişse kullanmayın.
17. T-Cell *Xtend*, potansiyel olarak bulaşıcı olan hayvansal kaynaklı maddeler içerir. Normal kullanım koşullarında bu maddeler kullanıcı ile temas etmemektedir.

Sağlanan Malzemeler

Her kutu şunları içerir:

Üç (3) adet 2 mL'lik T-Cell *Xtend* monoklonal antikor (TT.610) şişesi.

Saklama ve Stabilit e

Açılmamış T-Cell *Xtend* reaktifi şişelerini kutunun üzerinde belirtilen son kullanma tarihine kadar 2-8 °C'de saklayın.

Açılmış ve yeniden kapatılmış şişeleri 2-8 °C'de saklayın ve açıldıktan sonra bu süre kutunun üzerindeki son kullanma tarihini geçmedikçe 12 hafta içinde kullanın.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Ekipman ve Malzemeler

1. Heparinize kan alma tüpleri.
2. FICOLL veya alternatif PBMC ayırma malzemeleri,  rneğın Accuspin™ ve Leucosep tüpleri.
3. PBMC'leri ayırmak için yoğunluk santrifüjleme yöntemleri kullanılıyorsa PBMC izolasyonu için en az 1800 RCF (g) kapasiteli ve numuneleri oda sıcaklığında (18-25°C) muhafaza eden santrifüj.
4. Biyogüvenlik Seviyesi 2 (BL 2) kabin ( nerilir).
5. Pipetler ve steril pipet uçları.
6. ELISPOT kiti.

Prosedür

Not: Aşağıdaki adımlar, İyi Laboratuvar Uygulamaları ilkeleri kullanılarak gerçekleştirilmelidir:

1. Tam kanı lityum heparinli kan alma tüplerinde toplayın ve 32 saate kadar 10-25 °C'de saklayın.
2. Ticari bir ELISPOT testinde kullanmadan hemen önce, toplama tüpünün kapağını çıkarıldıktan sonra önerilen hacimde pipetleyerek her bir mL tam kan için 25 µL T-Cell *Xtend* reaktifi ekleyin.
3. Kapağı yerine takın ve kan alma tüpünü 8 ila 10 kez yavaşça ters çevirin.
4. Tam kanı, T-Cell *Xtend* reaktifi ile oda sıcaklığında (18-25 °C) 20 ± 5 dakika inkübe edin.
5. FICOLL yoğunluk gradyanlı santrifüjleme veya alternatif bir PBMC izolasyon yöntemi kullanarak PBMC fraksiyonunu izole edin.
6. ELISPOT kiti üreticisinin kullanım talimatlarını izleyerek PBMC'leri ELISPOT testi için hazırlayın.

Not: Bireysel laboratuvarlar, yeterli miktara ulaşmak için PBMC'lerin toplanması ve ayrılması prosedürlerini valide etmelidir. Bu bağlamda aşağıdakiler tavsiye edilir:

- Kan numuneleri, PBMC'ler daha sonra FICOLL yoğunluk gradyanı gibi standart ayırma teknikleri kullanılarak ayrılmak üzere lityum heparinli kan alma tüplerinde toplanır. İstenirse PBMC fraksiyonunu saflaştırmak için önceden FICOLL ile doldurulmuş Accuspin veya Leucosep tüpleri gibi alternatif yöntemler kullanılabilir.

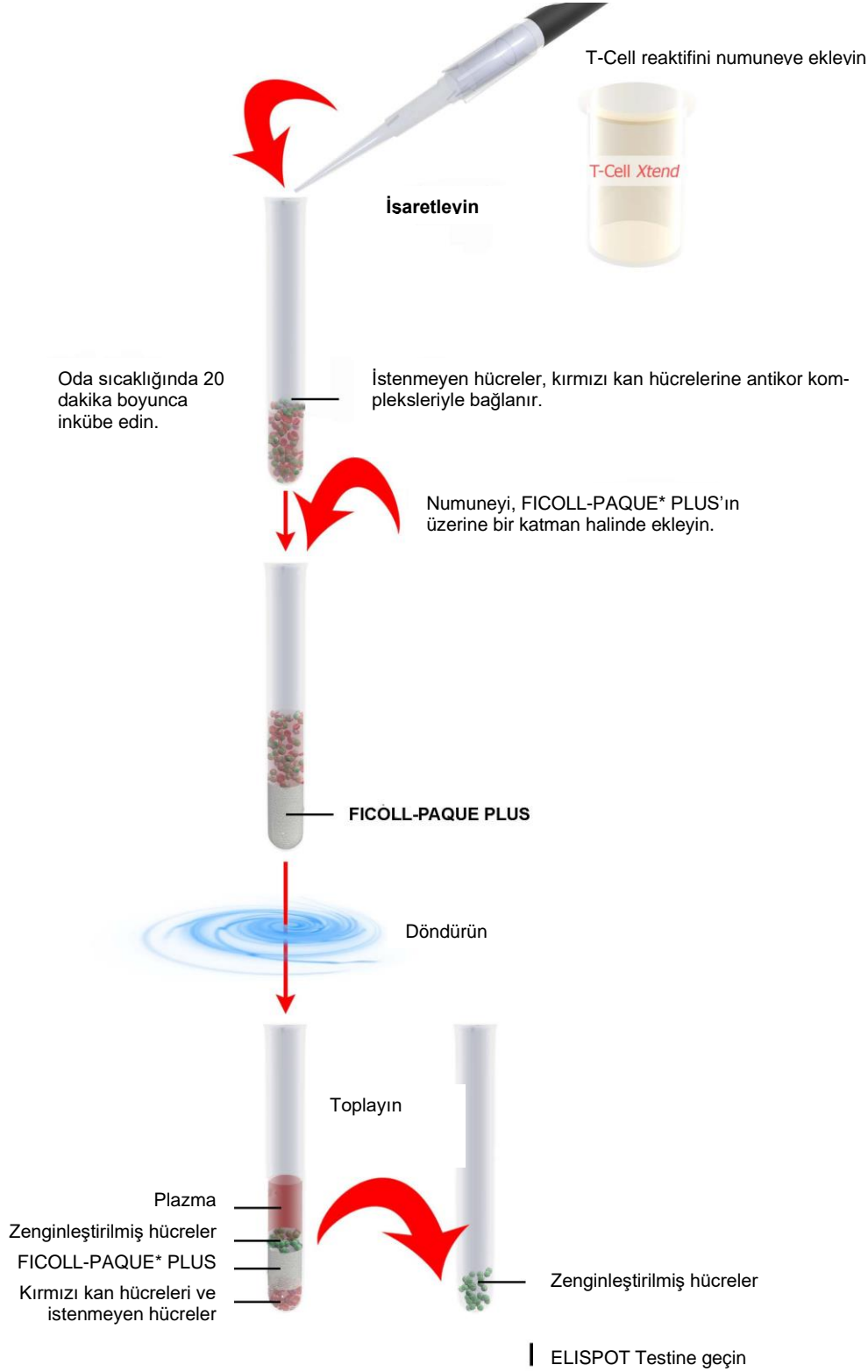
- Hastanın hücreleri; yeterli miktarda hücre elde etmek üzere, gerekirse içerdiği kan eř zamanlı olarak toplanıp işlenmiş olan birden fazla t p kullanılması suretiyle bir havuzda toplanabilir.

Tipik olarak, bağışıklığı yeterli hastalarda testi çalıştırmaya yetecek miktarda PBMC venöz kan numunelerinden aşağıdaki yönergelere göre elde edilebilir:

- Yetiřkinler ve 2 yařından büyük çocuklarda: bir adet 6 mL'lik lityum heparin t p
- 2 yař altı çocuklarda: bir adet 2 mL'lik pediatrik t p

Reaktif Hazırlama

T-Cell *Xtend* reaktifi kullanıma hazır olarak sağlanır. Reaktif hazırlığı gerekli değildir.



Şekil 1: T-Cell *Xtend* reaktifinin, venepunkturdan 32 saat sonrasına kadar saklanan/sevk edilen tam kanla kullanılmak üzere bir ELISPOT protokolüne nasıl dahil edilmesi gerektiğini gösteren diyagram.

Sınırlamalar

1. T-Cell *Xtend* reaktifi bir tanı yardımcısıdır. Test sonuçları, kullanılan tanı testinin sonuçları ile birlikte yorumlanmalıdır.

Kalite Kontrol

T-Cell *Xtend* reaktifinin kurum içi testlerinde, venepunkturdan sonra 8 saatten daha kısa süre saklanan tam kan numuneleri ile T-Cell *Xtend* reaktifiyle muamele edilmiş ve 32 saate kadar saklanmış tam kan numuneleri karşılaştırıldığında, PBMC verimlerinde veya T hücre popülasyonlarında önemli bir düşüş görülmemiştir. Bireysel bir laboratuvarın kalite kontrol faaliyetlerinin bir parçası olarak ilgili test sistemi için hücre sayma yöntemleri , yeterli miktarda PBMC elde edilebilmesini sağlamak üzere tasarlanmalı ve valide edilmelidir. Ayrıca, kalite kontrol faaliyetleri, ilgili test sistemi içinde T hücrelerinden beklenen performansın elde edilmesini sağlamak üzere tasarlanan pozitif ve negatif kontrollerin kullanımını içermelidir.

Performans Özellikleri

Venepunkturdan sonra 32 saate kadar saklanan tam kan numunelerinin bir ELISPOT testiyle (T-SPOT®.TB testi) işlenmesi için T-Cell *Xtend* reaktifinin hücre ayırımından önce eklendiği ve eklenmediği türde klinik çalışmalar yürütülmüştür.

T-Cell *Xtend* reaktifi kullanılan ve kullanılmayan T- SPOT.TB testlerine ilişkin klinik çalışma verilerine (3 bölge) göre genel uyum %96.6'dır (340/352) [%95 GA %94.1-98.2].

Ciddi Olayların Bildirilmesi

Bu cihazla ilgili ciddi bir olay meydana geldiyse, Müşteri Hizmetlerine bildirilmelidir. Avrupa Birliği Üye Devletlerinde, ciddi vakalar ayrıca ülkenizdeki yetkili makama (in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlardan sorumlu devlet dairesi) bildirilmelidir. Yetkili makamınızla nasıl iletişime geçeceğinize ilişkin ayrıntılar için lütfen devletinizin web sitesine bakın. 'Ciddi bir olay', doğrudan veya dolaylı olarak aşağıdakilere yol açan, açmış olabilecek veya açabilecek herhangi bir olay anlamına gelir:

- Bir hastanın, kullanıcının veya başka bir kişinin ölümü;
- Bir hastanın, kullanıcının veya başka bir kişinin sağlık durumunun geçici veya kalıcı olarak ciddi şekilde bozulması;
- Ciddi bir halk sağlığı tehdidi.

Müşteri Hizmetleri İletişim Bilgileri

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

Ürün desteği yüklemeleri ve daha fazla teknik bilgi için lütfen web sitemizi ziyaret edin:
www.oxfordimmunotec.com











ELISPOT için PBMC'lerin Hazırlanmasında Sorun Giderme Kılavuzu

Sorun	Potansiyel Sebep	Olası Çözüm
Düşük hücre verimi	Lökopeni Kan alma hatası Kan alma tüpünün oda sıcaklığında (18-25°C) olmaması Kan saklanırken 10-25°C sıcaklık sağlanmaması Kan saklama süresinin önerilen süreyi aşması	İlave bir kan toplama tüpü ekleyin. Hücre Hazırlama Tüplerini (CPT, Becton Dickinson) veya antikoagülan EDTA içeren kan alma tüplerini kullanmayın. Numune toplamadan önce kan alma tüpünün oda sıcaklığına dengelendiğinden emin olun. Kan taşıma işlemlerinin 10-25°C'de yapıldığından emin olun. Başka bir kan numunesi alın ve testi tekrarlayın.
Kırmızı kan hücresi kontaminasyonu	Kan alma tüpünün oda sıcaklığında (18-25°C) olmaması Hatalı santrifüjleme	Numune toplamadan önce kan alma tüpünün oda sıcaklığına dengelendiğinden emin olun. Santrifüjleme süresini 30 dakikaya çıkarın. Santrifüjün soğutmalı olup olmadığını kontrol edin. Santrifüjün freninin çalışıp çalışmadığını kontrol edin ve bu adımların üreticinin FICOLL ayrımı talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildiğinden emin olun.
Tanımlanmış veya belirgin mononükleer katman bulunmaması	Santrifüjün doğru kalibre edilmemesi Santrifüj hızının çok düşük olması Santrifüj süresinin çok kısa olması Hiperlipemik numune	Santrifüjü kalibre ettirin. 1500-1800 RCF üretmek için santrifüj hızını artırın. Santrifüjleme süresini 30 dakikaya çıkarın. Açlık kan numunesi toplayın.
Geçersiz sonuçlar	Geçersiz sonuçların sebebi bir dizi yanlış numune işleme sorunu olabilir.	Yukarıdaki bölümlere bakın.

Literatür Referansları

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

Semboller Sözlüğü


	Son kullanma tarihi (Yıl-Ay-Gün)
	Lot numarası
	Katalog numarası
	Dikkat, kullanım talimatlarına bakın
	Üretici firma
	In vitro tanı cihazı
	“n” sayıda test için yeterli
	Kullanım talimatlarına bakın
	AB Yetkili Temsilcisi
	Sıcaklık sınırlaması / Bu sıcaklık aralığında saklayın

T-SPOT, T-Cell *Xtend* ve Oxford Immunotec logosu, Oxford Immunotec Limited'in ticari markalarıdır. CPT ve Vacutainer, Becton, Dickinson and Company'nin ticari markalarıdır. Ficoll ve Ficoll-Paque, Global Life Sciences Solutions USA LLC'nin bir iştiraki olan Cytiva'nı n tescilli ticari markalarıdır. Accuspin, Sigma-Aldrich'in ticari markasıdır.

T-Cell *Xtend* reaktifinin kullanımı aşağıdaki patentler ve bekleyen patentlerle korunmaktadır: EP2084508, US9090871, CN1 01 529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2024 Oxford Immunotec. Her hakkı saklıdır.

 Üretici: Oxford
Immunotec Ltd 143 Park
Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Birleşik Krallık
www.oxfordimmunotec.com

 Avrupa Birliği Yetkili Temsilcisi:
Wallac Oy
Mustionkatu 6,
FI-20750 Turku,
Finlandiya

Revizyon numarası	Veriliş tarihi	Değişiklikler
1-7	Ayrıntılar, Oxford Immunotec'ten talep edilebilir.	
8	Ağustos 2023	j PI-TT-IVD-UK-V8'un ilk çevirisi
9	Eylül 2024	AB'deki yetkili temsilcinin değişmesi



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



www.oxfordimmunotec.com