

T-Cell Select™



Do przygotowania oczyszczonych jednojądrzastych komórek odpornościowych bezpośrednio z krwi pełnej

ULOTKA DO OPAKOWANIA

Do użytku diagnostycznego *in vitro*

Niniejsza ulotka dołączona do opakowania obejmuje stosowanie:

T-Cell Select (Nr katalogowy: TSK.910)

Przeznaczenie

Zestaw T-Cell *Select*[™] jest przeznaczony do izolowania jednojądrzastych komórek odpornościowych z próbek krwi pełnej, przy użyciu systemu separacji opartego na kulkach magnetycznych, do stosowania w komórkowych testach immunologicznych.

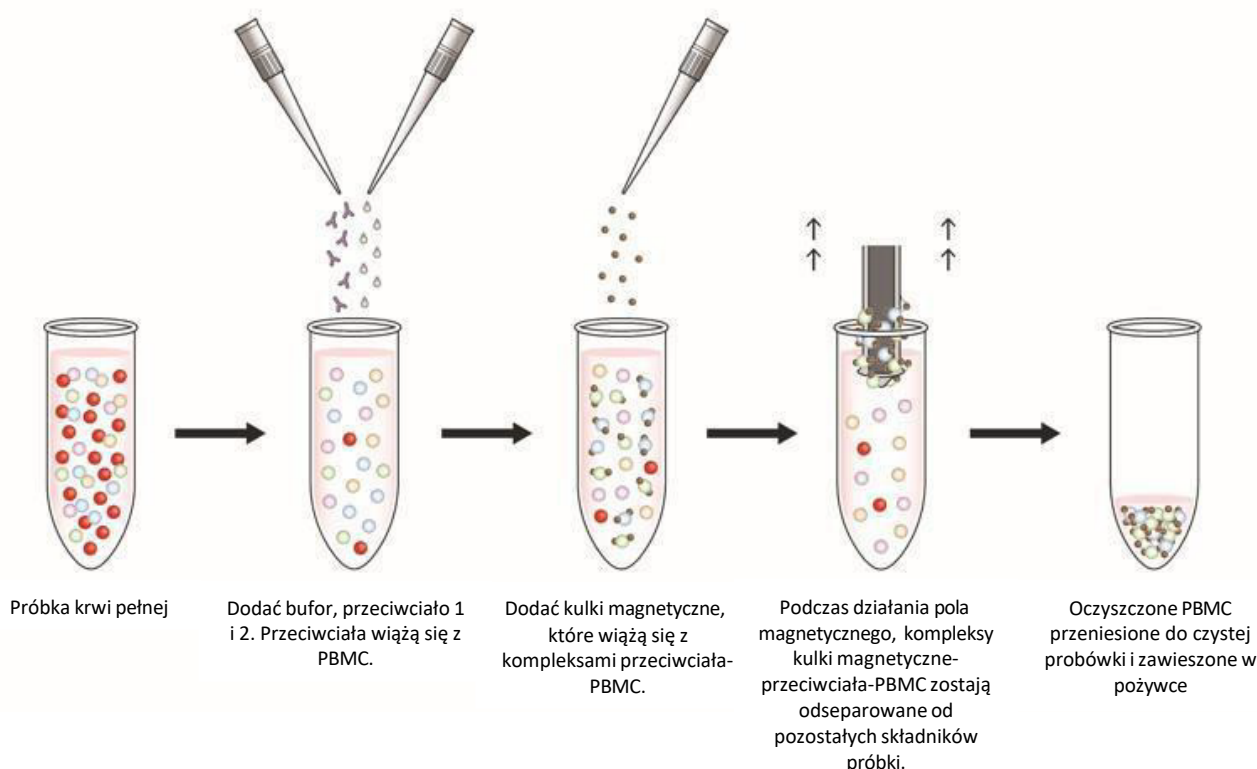
Wprowadzenie

W przypadku komórkowych testów immunologicznych, takich jak testy immunoenzymatyczne (ELISPOT), komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMC) są zazwyczaj izolowane przy użyciu metod wirowania w gradiencie gęstości. Zestaw T-Cell *Select* umożliwia izolację PBMC za pomocą pozytywnej selekcji jednojądrzastych komórek odpornościowych za pomocą systemu separacji komórek opartego na kulkach magnetycznych. Zastosowanie systemów separacji magnetycznej umożliwia automatyzację procesu izolacji komórek, co znacznie skraca czas potrzebny na przygotowanie próbek.

Komórki wyizolowane z krwi przechowywanej przez maksymalnie 54 godziny za pomocą zestawu T-Cell *Select* dają wyniki równoważne z komórkami wyizolowanymi za pomocą wirowania w gradiencie gęstości i odczynnika T-Cell *Xtend*, co oceniono w teście T-SPOT.*TB*.

Zasada metody

Zastosowanie zestawu T-Cell *Select* usprawnia logistykę i przepływ pracy przygotowania PBMC do użycia w testach ELISPOT. Zestaw zawiera zastrzeżony zestaw odczynników składający się z koncentratu buforowego, przeciwciał i kulek magnetycznych. Rozcieńczony bufor T-Cell *Select* dodaje się do próbki krwi pełnej, aby ułatwić oczyszczanie komórek i zmniejszyć zanieczyszczenie czerwonymi krwinkami, a następnie dodaje się przeciwciała, które wiążą się z komórkami odpornościowymi w próbce. Dodanie kulek magnetycznych powoduje tworzenie kompleksów z przeciwciałami przyłączonymi do komórek odpornościowych. Właściwości magnetyczne kulek są wykorzystywane przez odpowiedni system separacji magnetycznej do izolowania PBMC z próbki, tak aby oczyszczone komórki móc wykorzystać w teście ELISPOT. Laboratoria powinny zwalidować metodę pozytywnej selekcji na swoim własnym sprzęcie, w tym na odpowiednich objętościach krwi i liczbie cykli, w których próbki są wystawione na działanie magnesu.



Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Wyłącznie do diagnostyki *in vitro*.
2. Tylko do użytku profesjonalnego; operatorzy muszą zostać przeszkoleni w zakresie tej procedury.
3. Próbkę krwi należy traktować jako potencjalnie niebezpieczne. Należy zachować ostrożność podczas obchodzenia się z materiałem pochodzenia ludzkiego.
4. Postępowanie z próbkami krwi pełnej i składnikami testu podczas stosowania, przechowywania i usuwania powinno odbywać się zgodnie z procedurami określonymi w odpowiednich krajowych wytycznych lub przepisach dotyczących bezpieczeństwa biologicznego.
5. Wszelkie odstępstwa od zalecanych procedur pipetowania, technik przemywania, czasów inkubacji i/lub temperatur mogą wpływać na wyniki testu.
6. Nie pobierać krwi do probówek do pobierania krwi z dodatkiem EDTA.
7. Nie przechowywać w lodówce ani nie zamrażać próbek krwi pełnej. Przechowywać i transportować próbki krwi do laboratorium w temperaturze od 18 do 25°C.
8. Nie rozcieńczać ani nie dodawać innych składników bezpośrednio do odczynników T-Cell *Select* poza tymi, które opisano w instrukcji dołączonej do opakowania.
9. Przed użyciem zestawu T-Cell *Select* należy zweryfikować każdy sprzęt laboratoryjny zgodnie z protokołem laboratorium.
10. Do pobierania próbek krwi żyłnej należy używać wyłącznie pojemników jednorazowego użytku.
11. Nie mieszać różnych odczynników z różnych partii w jednej próbce pacjenta.
12. Nie używać po upływie daty ważności.
13. Nie używać z próbką krwi pełnej, która była przechowywana dłużej niż 54 godziny.
14. Podczas korzystania z tego produktu należy stosować techniki aseptyczne.
15. Nie używać, jeśli fiolki wydają się być uszkodzone lub już otwarte.
16. Nie używać, jeśli płyn w fiolkach jest przebarwiony lub wytrącił się.
17. Przeciwciało 1 i Przeciwciało 2 zawierają potencjalnie zakaźne substancje pochodzenia zwierzęcego. W prawidłowych warunkach użytkowania substancje te nie mają kontaktu z użytkownikiem.

Dostarczone materiały

Każde pudełko zawiera:

Zestaw testowy na 144 oznaczenia*

| Odczynnik | Ilość |
|------------------------------|-----------|
| Koncentrat buforowy (BU.910) | 1 x 50 ml |
| Przeciwciało 1 (AC.910) | 3 x 2 ml |
| Przeciwciało 2 (AH.910) | 3 x 2 ml |
| Kulki magnetyczne (BR.910) | 1 x 10 ml |

*Proszę zapoznać się z sekcją *Ograniczenia*, aby zapoznać się z ważną uwagą dotyczącą ilości testowej na zestaw

Przechowywanie i stabilność

Przechowywać nieotwarte zestawy T-Cell *Select* w temperaturze od 2 do 8°C do daty ważności podanej na opakowaniu. Otwarte i ponownie zamknięte fiolki z odczynnikami T-Cell *Select* należy przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C i zużyć w ciągu 4 tygodni od otwarcia, chyba że ten okres przekracza datę ważności umieszczoną na opakowaniu. Nie mieszać składników z różnych serii zestawów.

Sprzęt i materiały wymagane, ale niedostarczane

1. Probówki do pobierania krwi; zaleca się stosowanie probówek z heparyną litową lub sodową lub probówki z cytrynianem sodu.
2. Woda destylowana lub dejonizowana.
3. Sterylna pożywka do hodowli komórkowych bez surowicy, taka jak Gibco® AIM-V® Medium.
4. RPMI 1640 Medium.
5. Odpowiedni sprzęt do oczyszczania przy użyciu kulek magnetycznych powinien być zatwierdzony przez laboratorium, taki jak:
 - Instrument z zanurzoną głowicą pręta magnetycznego, kompatybilny z mikro płytką głęboko-dołkową
 - Magnes blokowy z wnęką na probówkę
 - Podstawa magnetyczna do płytek, kompatybilna z mikro płytkami głęboko-dołkowymi

6. Probówki lub pojemniki zgodne z laboratoryjnym systemem separacji magnetycznej.
7. Pipety i sterylne końcówki do pipet.
8. Minutnik.
9. Komora laminarna bezpieczeństwa biologicznego 2 (BL 2) (zalecana).

Procedura

Poszczególne laboratoria powinny zweryfikować swoje procedury pobierania i rozdzielania jednojądrzastych komórek odpornościowych w celu uzyskania ich wystarczającej liczby. Ta procedura obejmuje metodę izolacji T-Cell *Select* do użytku ze sprzętem zatwierdzonym laboratoryjnie. Objętość krwi na próbkę należy zweryfikować za pomocą używanego sprzętu. Kroki 11, 12 i 16 (oraz wszelkie dodatkowe cykle ekspozycji magnetycznej) można zoptymalizować pod kątem stosowanego układu magnetycznego w przewidzianych czasach. Walidacja powinna zapewnić wyizolowanie odpowiednich ilości PBMC do użycia w wymaganym teście ELISPOT.

Uwagi:

Poniższe czynności należy wykonać stosując zasady Dobrej Praktyki Laboratoryjnej. Przed użyciem upewnij się, że wszystkie odczynniki mają temperaturę pokojową.

1. Dokładnie wymieszaj próbkę krwi.
2. Przenieś krew do pojemnika kompatybilnego z systemem separacji magnetycznej twojego laboratorium. Zazwyczaj stosuje się 3,5-5 ml krwi na próbkę w celu uzyskania wystarczającej liczby komórek do wykorzystania w procedurach ELISPOT.
3. Rozcieńczyć T-Cell Select Buffer Concentrate w wodzie destylowanej lub dejonizowanej w stosunku 2:3, koncentrat buforu: woda destylowana lub dejonizowana.
4. Dodać rozcieńczony bufor T-Cell Select Buffer do pełnej krwi w stosunku 1:7, bufor: krew.
5. Dodać 10 µl przeciwciała 1 na ml objętości połączonej krwi pełnej i buforu.
6. Dodać 10 µl przeciwciała 2 na ml objętości połączonej krwi pełnej i buforu.
7. Dokładnie wymieszać próbkę.
8. Inkubować próbkę przez 15 minut w temperaturze pokojowej.
9. Dokładnie wymieszać kulki magnetyczne bezpośrednio przed użyciem. Dodać 15 µl kulek magnetycznych na ml krwi pełnej i buforu.
10. Delikatnie wymieszać próbkę.
11. Inkubować próbkę przez 15 minut w temperaturze pokojowej, mieszając co najmniej co 5 minut.
12. Wystawić próbkę na działanie odpowiedniego magnezu na co najmniej 10 minut (Uwaga: czas inkubacji należy zweryfikować w połączeniu z zastosowanym systemem magnesów). Komórki znakowane przeciwciałami będą migrować w kierunku magnezu.
13. Odrzucić supernatant zgodnie z procedurą laboratoryjną, uważając jednocześnie, aby zachować kulki z przyczepionymi komórkami, które migrowały do magnezu.
14. Usunąć próbkę z pola magnetycznego.
15. Do pozostałych komórek dodać objętość RPMI równą pierwotnej objętości pełnej krwi i buforu do lizy. Wymieszać, aby ponownie zawiesić próbkę.
16. Wystawić próbkę na działanie odpowiedniego magnezu na co najmniej 10 minut (Uwaga: czas inkubacji należy zweryfikować w połączeniu z zastosowanym systemem magnesów). Komórki znakowane przeciwciałami będą migrować w kierunku magnezu.
17. Odrzucić supernatant zgodnie z procedurą laboratoryjną, uważając jednocześnie, aby zachować kulki z przyczepionymi komórkami, które migrowały do magnezu.
18. Usunąć próbkę z pola magnetycznego.
19. Dokładnie ponownie zawiesić próbkę w pożywce AIM-V, aby uzyskać końcowe stężenie komórek co najmniej $2,5 \times 10^6$ /ml. Próbkę jest gotowa do zliczania komórek i użycia w procedurach ELISPOT (Uwaga: próbka może być wystawiona na działanie magnezu przez dodatkowe cykle przed dodaniem pożywki AIM-V, jeśli więcej cykli zostało zwalidowanych przy użyciu systemu magnetycznego).

Uwaga: Poszczególne laboratoria powinny zweryfikować swoje procedury pobierania i rozdzielania jednojądrzastych komórek krwi obwodowej w celu uzyskania wystarczającej liczby komórek. Laboratoria muszą walidować swoje systemy separacji magnetycznej i wszelkie inne sprzęty stosowane w procedurze izolacji komórek. Zaleca się:

- W razie potrzeby komórki pacjenta można połączyć, aby uzyskać wystarczającą liczbę komórek z wielu probówek z krwią, które zostały pobrane i przetworzone w ciągu 54 godzin.
- Zwykle w przypadku osób dorosłych i dzieci w wieku powyżej 2 lat z prawidłową odpornością wystarczająca liczba komórek do przeprowadzenia procedur komórkowych testów immunologicznych można uzyskać z 3,5 ml próbek pełnej krwi.

W przypadku dzieci w wieku do 2 lat należy stosować jedną próbkę pediatryczną o pojemności 2 ml.

Ograniczenia

1. Chociaż zestaw T-Cell *Select* jest przeznaczony do przeprowadzenia 144 oznaczeń, liczba które każde laboratorium jest w stanie wykonać za pomocą jednego zestawu, będzie się różnić. Wiele zmiennych wpływa na ilość potrzebnych odczynników, a tym samym na liczbę testów obsługiwanych przez każdy zestaw. Takie zmienne mogą obejmować używany sprzęt laboratoryjny, początkową objętość krwi i liczbę cykli, w których próbki są wystawione na działanie magnesu.
2. Zestaw T-Cell *Select* jest przeznaczony do izolacji komórek jednojądrzastych z pełnej krwi do stosowania w procedurach komórkowych testów immunologicznych. Sam w sobie nie jest testem diagnostycznym. Wyniki testu należy interpretować w połączeniu z wynikami stosowanego testu diagnostycznego.

Kontrola jakości

- Testy wewnętrzne nie wykazały istotnej różnicy w populacjach jednojądrzastych komórek odpornościowych uzyskanych z próbki krwi pełnej przy użyciu zestawu T-Cell *Select* w porównaniu z metodami rozdzielania w gradiencie gęstości.
- W ramach kontroli jakości poszczególnych laboratoriów należy zaprojektować i zwalidować metody separacji magnetycznej i liczenia komórek, aby zapewnić uzyskanie wystarczającej liczby jednojądrzastych komórek odpornościowych do odpowiedniego testu diagnostycznego.
- Należy uwzględnić odpowiednie kontrole dodatnie i ujemne, aby zapewnić, że komórki jednojądrzaste przygotowane na drodze separacji magnetycznej zapewniają oczekiwane wyniki w teście diagnostycznym.

Charakterystyka wydajności

Przeprowadzono badania kliniczne w celu wykazania skuteczności testu T-SPOT.*TB* przy użyciu komórek wyizolowanych zestawem T-Cell *Select* z krwi przechowywanej do 54 godzin po nakłuciu żyły. Rozdzielone próbki przetwarzano przy użyciu zestawu T-Cell *Select* (czas przechowywania 0-54 godzin) i wirowania w gradiencie gęstości (czas przechowywania 0-32 godzin).

Ogólna zgodność danych z badań klinicznych między testem T-SPOT.*TB* wykonanym przy użyciu zestawu odczynników T-Cell *Select*, a metody rozdzielania w gradiencie gęstości wyniosła 97% (644/664) [95% CI 95,4-98,2%].

Wśród niewielkiej liczby niezgodnych wyników między metodami zaobserwowano, że szereg wyników ujemnych z próbek z komórkami wyizolowanymi metodą wirowania w gradiencie gęstości, które były dodatnie przy użyciu zestawów odczynników T-Cell *Select*, zostało następnie uznanych za mikrobiologicznie potwierdzone dodatnie wyniki gruźlicy (n=6). Wskazuje to, że metoda izolacji komórek z pozytywną selekcją może zapewnić lepszą czułość testu T-SPOT.*TB*.

Zgłaszanie poważnych incydentów

Jeżeli doszło do poważnego incydentu związanego z tym urządzeniem, należy to zgłosić do Działu Obsługi Klienta. W krajach Unii Europejskiej poważne incydenty należy również zgłaszać właściwemu organowi (departamentowi rządowemu odpowiedzialnemu za wyroby medyczne do diagnostyki *in vitro*) w swoim kraju. Szczegółowe informacje o tym, jak skontaktować się z właściwym organem, można znaleźć na stronie internetowej swojego rządu. „Poważny incydent” oznacza każdy incydent, który bezpośrednio lub pośrednio doprowadził, mógł doprowadzić lub mógł doprowadzić do:












- śmierć pacjenta, użytkownika lub innej osoby;
- czasowe lub trwałe poważne pogorszenie stanu zdrowia pacjenta, użytkownika lub innej osoby;
- poważne zagrożenie zdrowia publicznego.

Dane kontaktowe

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

Aby uzyskać pomoc dotyczącą produktów i informacje techniczne, odwiedź naszą witrynę internetową:
www.oxfordimmunotec.com

Słowniczek symboli

| | |
|---|--|
|  | Użyć do/data ważności (rok-miesiąc-dzień) |
|  | Numer serii |
|  | Numer katalogowy |
|  | Uwaga, patrz instrukcja użycia |
|  | Producent |
|  | Wystarczające do przeprowadzenia badań „n” |
|  | Urządzenie do diagnostyki <i>in vitro</i> |
|  | Ograniczenie temperatury/Przechowywać pomiędzy |
|  | Należy zapoznać się z instrukcją użycia |
|  | Trzymać z dala od światła słonecznego |
|  | Autoryzowany przedstawiciel UE |

T-SPOT, T-Cell Xtend i logo Oxford Immunotec są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Oxford Immunotec Ltd. T-Cell *Select* jest znakiem towarowym firmy Oxford Immunotec Ltd. AIM-V i GIBCO są zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Life Technologies Corporation.

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

© 2023, Oxford Immunotec Limited. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Producent:

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Wielka Brytania
+44(0)1235 442796
www.oxfordimmunotec.com

Autoryzowany przedstawiciel UE:

Oxford Immunotec (Irlandia)
Unit 3d North Point House, North Point
Business Park, New Mallow Road, Cork, T23
AT2P Irlandia

| Numer wersji | Data wydania | Modyfikacje |
|--------------|--------------------|--|
| 1-6 | Szczegóły dostępne | na życzenie w Oxford Immunotec. |
| 7 | Marzec 2023 | Pierwsze tłumaczenie j PI-TS-IVD-UK-V7 |



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

