

T-Cell Xtend[®]



Zur Verwendung bei der Isolation von gereinigten Lymphozyten
direkt aus Vollblut

PACKUNGSBEILAGE

Zur In-vitro-Diagnostik

Diese Packungsbeilage enthält Informationen zur Anwendung von:

T-Cell Xtend (Katalognummer: TTK.610)

Verwendungszweck

Das T-Cell *Xtend* Reagenz ist zur Gewinnung von gereinigten T-Zellen aus Vollblut bestimmt. Das Reagenz erlaubt Laboren, Lymphozyten aus Vollblut bis 32 Stunden nach Blutentnahme für die Untersuchung mit einem kommerziellen ELISPOT-Verfahren zu isolieren.

Einleitung

Allgemein wurden ELISPOT-Verfahren für die Bearbeitung von Vollblutproben innerhalb von 8 Stunden nach der Blutentnahme validiert. Dieser Zeitraum für die Blutverarbeitung beschränkte den Einsatz des Tests aufgrund Ressourcenbindung und Einschränkungen im Arbeitsablauf. Die Einbindung des T-Cell *Xtend* Reagenz in den ELISPOT-Prozess ermöglicht eine erhöhte Flexibilität für das Labor. Die Blutproben können ohne Auswirkung auf die T-Zellfunktion oder -leistungsfähigkeit über Nacht versandt und/oder gelagert werden.

Prinzipien der Methode

Die Verwendung des T-Cell *Xtend* Reagenz bei der Separation von Lymphozyten aus Vollblut verbessert die Logistik und die Durchführung von ELISPOT-Assays bei gelagerten Proben. T-Zellen, die aus über Nacht gelagertem Vollblut isoliert werden, scheinen eine verminderte Reaktion bei einer Stimulation mit Antigenen innerhalb eines ELISPOT-Assays zu zeigen, welches jedoch primär auf kontaminierende Zellpopulationen in der Schicht peripherer mononukleärer Blutzellen (Peripheral Blood Mononuclear Cells - PBMC) zurückzuführen ist. Das T-Cell *Xtend* Reagenz enthält bispezifische monoklonale Antikörper, die gegen Zelloberflächenmarker auf selektierten Leukozyten und Erythrozyten gerichtet sind. Das T-Cell *Xtend* Reagenz vernetzt die selektierten Leukozyten mit den Erythrozyten, was die Dichte dieser selektierten Zellen erhöht. Wenn bei der FICOLL*-Extraktion ein Dichtegradient angewendet wird, verbleiben die selektierten Leukozyten in der Erythrozytenschicht von der PBMC-Schicht separiert. Nicht selektierte Zellen, einschließlich der T-Zellen und Antigen präsentierende Zellen, befinden sich in der PBMC-Schicht. Studien haben gezeigt, dass die Funktionalität von T-Zellen, die mit dem T-Cell *Xtend* Reagenz nach Lagerung über Nacht gewonnen wurden, mit der Funktionalität von aus frischem Blut gewonnenen T-Zellen vergleichbar sind.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. In-vitro-Diagnostikum.
2. Nur zur professionellen Verwendung; Laborpersonal sollte in dieses Verfahren eingewiesen werden.
3. Blutproben müssen als potenziell infektiös angesehen werden. Material humanen Ursprungs ist unter Verwendung geeigneter Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln.
4. Der Umgang mit Vollblutproben und Assay-Bestandteilen bei der Verwendung, Lagerung und Entsorgung muss in Übereinstimmung mit den in einschlägigen nationalen Sicherheitsrichtlinien oder -bestimmungen für biologische Gefährdung definierten Verfahren erfolgen.
5. Jede Abweichung von den empfohlenen Verfahren zu Pipettierung, Waschtechniken, Inkubationszeiten und/oder Temperaturen kann sich auf die Testergebnisse auswirken.
6. Das Blut darf nicht in CPT-Röhrchen (Cell Preparation Tubes - CPT™, Becton Dickinson) oder EDTA-Blutentnahmeröhrchen entnommen werden, da diese nicht mit dem T-Cell *Xtend* Reagenz kompatibel sind.
7. Vollblutproben dürfen nicht gekühlt oder eingefroren werden. Die Blutproben müssen bei 10-25 °C im Labor gelagert werden.
8. Das T-Cell *Xtend* Reagenz muss dem Vollblut vor der Probenbearbeitung hinzugefügt werden.
9. T-Cell *Xtend* darf nicht verdünnt werden, und es dürfen keine anderen Bestandteile direkt hinzugefügt werden.
10. Für die Entnahme von venösem Blut dürfen nur Einmalbehälter verwendet werden.
11. Es dürfen keine verschiedenen Chargen in derselben Patientenprobe kombiniert werden.
12. Nach dem Verfalldatum darf das Produkt nicht mehr verwendet werden.
13. Vollblutproben, die länger als 32 Stunden gelagert wurden, dürfen nicht mit diesem Produkt verwendet werden.
14. Bei der Verwendung dieses Produkts sind aseptische Techniken anzuwenden.
15. Nicht verwenden, wenn die Fläschchen beschädigt oder bereits geöffnet zu sein scheinen.
16. Nicht verwenden, wenn die Flüssigkeit in den Fläschchen verfärbt ist oder Ausfällungen aufweist.

17. T-Cell *Xtend* enthalten Substanzen tierischen Ursprungs, die potenziell infektiös sind. Unter normalen Gebrauchsbedingungen kommen diese Substanzen nicht mit dem Anwender in Berührung.

Mitgelieferte Materialien

Jede Packung enthält:

Drei (3) Fläschchen (2 mL) mit T-Cell *Xtend* monoklonalen Antikörpern (TT.610).

Lagerung und Stabilität

Ungeöffnet können Fläschchen mit T-Cell *Xtend* Reagenz bei 2-8 °C bis zum auf der Packung angegebenen Verfalldatum verwendet werden. Angebrochene und wieder verschlossene Fläschchen sind bei 2-8 °C zu lagern und müssen innerhalb von 12 Wochen nach Anbruch aufgebraucht werden, sofern diese Frist nicht das auf der Packung angegebene Haltbarkeitsdatum überschreitet.

Benötigte aber nicht mitgelieferte Ausstattung bzw. Material

1. Heparinisierte Blutentnahmeröhrchen.
2. FICOLL oder alternative PBMC-Separationsmaterialien, z.B. Accuspin™- und Leucosep-Röhrchen.
3. Zentrifuge für die Isolation von PBMCs mit einer Leistung von mindestens 1800 RCF (g). Die Zentrifuge sollte bei der Dichtegradientenzentrifugation Raumtemperatur halten (18-25 °C).
4. Biosicherheitswerkbank der Klasse 2 (empfohlen).
5. Pipetten und sterile Pipettenspitzen.
6. ELISPOT Kit.

Durchführung

Hinweis: Die folgenden Schritte sind nach Good Laboratory Practice (GLP) durchzuführen:

1. Vollblut in Lithium-Heparin-Blutentnahmeröhrchen entnehmen und höchstens 32 Stunden bei Raumtemperatur lagern (10-25 °C).
2. Unmittelbar vor der Verwendung mit einem kommerziellen ELISPOT Assay 25 µL T-Cell *Xtend* Reagenz pro mL Vollblut hinzufügen, indem der Verschluss des Entnahmeröhrchens entfernt und das empfohlene Volumen pipettiert wird.
3. Das Blutentnahmeröhrchen wiederverschließen und vorsichtig 8 bis 10 Mal invertieren.
4. Das Vollblut 20 ± 5 Minuten mit T-Cell *Xtend* Reagenz bei Raumtemperatur (18-25 °C) inkubieren.
5. Die PBMC-Fraktion mittels FICOLL-Dichtegradientenzentrifugation oder einer alternativen PBMC-Isolationsmethode isolieren.
6. Die PBMCs für den ELISPOT-Assay nach Herstelleranweisungen vorbereiten.

Hinweis: Jedes Labor sollte sein Verfahren zur Entnahme und Separation von PBMCs validieren, um eine ausreichende Zellzahl zu erhalten. Es geltende folgende Empfehlungen:

- Die Blutproben werden in Lithium-Heparin-Blutentnahmeröhrchen entnommen und die PBMCs nachfolgend mit Standardseparationstechniken wie FICOLL-Dichtegradient isoliert. Falls gewünscht, können alternative Methoden zur Reinigung der PBMC-Fraktion angewendet werden, z.B. mit FICOLL vorpräparierte Accuspin- oder Leucosep-Röhrchen.
- Falls erforderlich, können die Zellen eines Patienten gepoolt werden, um ausreichend Zellen aus mehreren gleichzeitig abgenommenen Blutröhrchen zu erhalten.

Normalerweise können bei einem immunkompetenten Patienten nach folgenden Angaben ausreichend PBMCs zur Durchführung des Assays aus venösen Blutproben erhalten werden:

- Erwachsene und Kinder über 2 Jahren: ein 6-mL-Lithium-Heparin-Röhrchen
- Kinder bis zu 2 Jahren: ein pädiatrisches 2-mL-Röhrchen

Vorbereitung der Reagenzien

Das T-Cell Xtend Reagenz wird gebrauchsfertig geliefert.

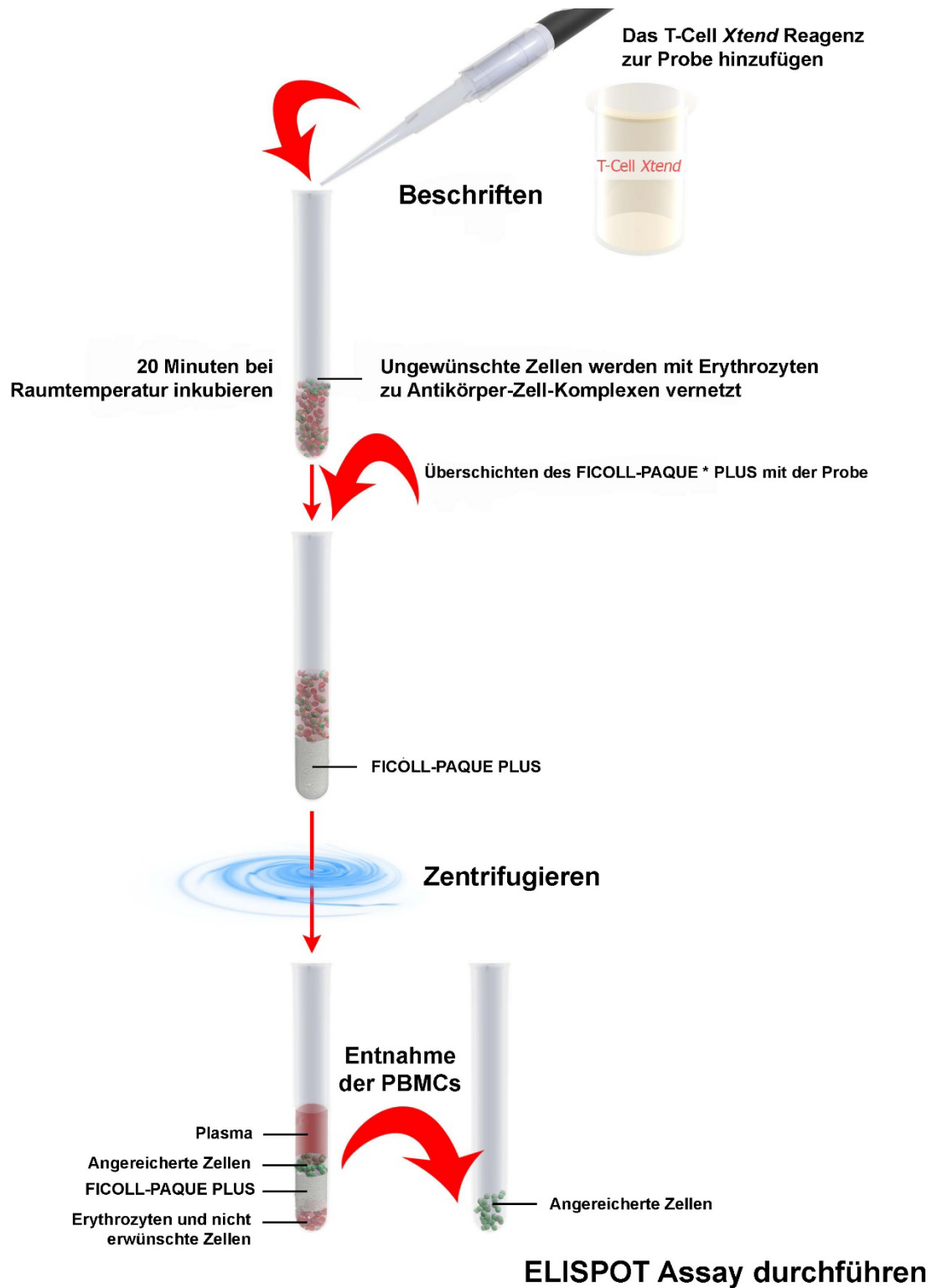


Abbildung 1: Anwendung des T-Cell Xtend Reagenz in einem ELISPOT-Verfahren zur Verwendung mit gelagerten/versandten Vollblutproben bis zu 32 Stunden nach der Blutentnahme

Einschränkungen

1. Das T-Cell *Xtend* Reagenz ist ein diagnostisches Hilfsmittel. Die Testergebnisse sollten im Zusammenhang mit den Ergebnissen des verwendeten diagnostischen Tests verwendet werden.

Qualitätskontrolle

Firmeninterne Tests des T-Cell *Xtend* Reagenz zeigten bei Behandlung mit T-Cell *Xtend* keine signifikanten Abnahmen der PBMC-Ausbeute oder der T-Zellpopulationen beim Vergleich von Vollblutproben, die nach der Blutentnahme weniger als 8 Stunden gelagert wurden, mit Vollblutproben, die bis zu 32 Stunden gelagert wurden. Im Rahmen der laboreigenen Qualitätskontrollmaßnahmen sollten Zellzählmethoden festgelegt und validiert werden, um zu gewährleisten, dass ausreichend PBMCs für das relevante Testsystem erhalten wurden. Außerdem sollten im Rahmen der Qualitätskontrollmaßnahmen positive und negative Kontrollen eingesetzt werden, die so entwickelt wurden, dass sie die erwartete Leistung der T-Zellen innerhalb des relevanten Testsystems gewährleisten.

Leistungsmerkmale

Es wurden klinische Studien mit und ohne Zugabe von T-Cell *Xtend* Reagenz vor der Zellseparation für die Bearbeitung von Vollblutproben mit einem ELISPOT-Assay (T-SPOT®.TB Assay) nach bis zu 32-stündiger Lagerung nach der Blutentnahme vorgenommen.

Die Übereinstimmung für die klinischen Studiendaten (3 Standorte) zwischen dem T-SPOT.TB Assay mit und ohne T-Cell *Xtend* Reagenz betrug insgesamt 96,6 % (340/352) [95 % KI 94,1-98,2 %].

Meldung ernster Zwischenfälle

Wenn ein ernster Zwischenfall im Zusammenhang mit diesem Produkt aufgetreten ist, sollte er dem Kundendienst gemeldet werden. In den Mitgliedstaaten der Europäischen Union sollten ernste Zwischenfälle auch der zuständigen Behörde Ihres Landes (der für In-vitro-Diagnostika zuständigen Regierungsstelle) gemeldet werden. Auf der Website Ihrer Regierung finden Sie Hinweise darauf, wie Sie sich an Ihre zuständige Behörde wenden können. Als „ernster Zwischenfall“ gilt jeder, der unmittelbar oder mittelbar mit Folgendem in Zusammenhang stand, gestanden haben könnte oder stehen könnte:

- Tod eines Patienten, Bedieners oder einer anderen Person;
- vorübergehende oder dauerhafte ernsthafte Verschlechterung des Gesundheitszustands eines Patienten, Bedieners oder einer anderen Person;
- ernsthafte Gefährdung der öffentlichen Gesundheit.

Kundendienstanschrift

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

Downloads zum Product Support und weitere technische Daten finden Sie auf unserer Website:
www.oxfordimmunotec.com











Problembekämpfung bei der Gewinnung von PBMCs für ELISPOT

Problem	Potenzielle Ursache	Mögliche Lösung
Niedrige Zellausbeute	<p>Leukopenie</p> <p>Fehler bei Blutentnahme</p> <p>Das Blutentnahmeröhrchen hat keine Raumtemperatur (18-25 °C)</p> <p>Das Blut wurde nicht bei 10-25 °C gelagert</p> <p>Das Blut wurde länger als empfohlen gelagert</p>	<p>Zusätzliches Blutentnahmeröhrchen verwenden</p> <p>Zellpräparationsröhrchen (CPT, Becton Dickinson) oder Entnahmeröhrchen, die das Antikoagulant EDTA enthalten, dürfen nicht verwendet werden</p> <p>Achten Sie darauf, dass die Blutentnahmeröhrchen vor der Probennahme auf Raumtemperatur gebracht wurden</p> <p>Stellen Sie sicher, dass der Versand des Blutes bei 10-25 °C erfolgt</p> <p>Entnehmen Sie eine neue Blutprobe und wiederholen den Test</p>
Erythrozytenkontamination	<p>Das Blutentnahmeröhrchen hat keine Raumtemperatur (18-25 °C)</p> <p>Fehler bei der Zentrifugation</p>	<p>Achten Sie darauf, dass die Blutentnahmeröhrchen vor der Probennahme auf Raumtemperatur gebracht wurden.</p> <p>Erhöhen Sie die Zentrifugationszeit auf 30 Minuten</p> <p>Prüfen Sie, ob die Zentrifuge gekühlt ist</p> <p>Prüfen Sie, ob die Zentrifuge eine Arbeitsbremse hat, und achten Sie darauf, dass diese Schritte in Übereinstimmung mit den Herstelleranweisungen für die FICOLL-Separation durchgeführt werden</p>
Nicht definierte oder gesonderte Monozytenschicht	<p>Die Zentrifuge ist nicht richtig kalibriert</p> <p>Die Zentrifugationsgeschwindigkeit ist zu niedrig</p> <p>Die Zentrifugationszeit ist zu kurz</p> <p>Hyperlipämische Probe</p>	<p>Führen Sie eine Rekalibration der Zentrifuge durch</p> <p>Erhöhen Sie die Zentrifugationsgeschwindigkeit auf 1500-1800 RCF</p> <p>Erhöhen Sie die Zentrifugationszeit auf 30 Minuten</p> <p>Nehmen Sie die Blutprobe eines nüchternen Patienten ab</p>
Ungültige Ergebnisse	Ungültige Ergebnisse können durch eine Reihe von Fehlern bei der Probenhandhabung entstehen	Siehe oben stehende Kapitel

Literatur

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

Zeichenerklärung:

	Verwendbar bis /Verfalldatum (Jahr-Monat-Tag)
	Ch.-B.
	Katalognummer
	Achtung, siehe Bedienungsanleitung
	Hersteller
	Ausreichend für "n" Tests
	Produkt zur In-vitro-Diagnostik
	Temperaturbeschränkung/Lagerung bei
	Bedienungsanleitung beachten
	Bevollmächtigter Vertreter in der EU

T-SPOT, T-Cell *Xtend* und das Oxford Immunotec Logo sind Warenzeichen von Oxford Immunotec Limited

CPT und Vacutainer sind Warenzeichen von Becton, Dickinson & Co.

Ficoll und Ficoll-Paque sind eingetragene Warenzeichen von Cytiva, einer Tochter der Global Life Sciences Solutions USA LLC


Accuspin ist ein Warenzeichen von Sigma-Aldrich

Die Verwendung des T-Cell *Xtend* Reagenz ist durch folgende Patente geschützt:

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

© 2022, Oxford Immunotec. Alle Rechte vorbehalten.

 **Hersteller:**
Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Vereinigtes Königreich
www.oxfordimmunotec.com

 **Bevollmächtigter Vertreter in der EU:**
Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Republik Irland

Versionsstand	Ausgabedatum	Änderungen
1 – 6	Angaben auf Anfrage von Oxford Immunotec erhältlich.	
7	Juni 2022	Änderung der Herstelleranschrift. Ergänzung des Änderungsprotokolls. Aufnahme von Anweisungen zur Meldung ernster Zwischenfälle, Einzelheiten zum EC REP und zum EU-Importeur.
8	Oktober 2022	Löschung der Angaben zum EU-Importeur.



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

