

T-Cell Select™

 Oxford
Immunotec
a PerkinElmer company

Da utilizzare nella preparazione di cellule immunitarie mononucleate purificate direttamente dal sangue intero

FOGLIO ILLUSTRATIVO

Per uso diagnostico *in vitro*

Il presente foglio illustrativo descrive l'uso di:

T-Cell *Select* (numero di catalogo: TSK.910)

Uso previsto

Il kit T-Cell *Select*[™] è destinato all'isolamento di cellule immunitarie mononucleate dal sangue intero, mediante selezione positiva attraverso un sistema di separazione cellulare basato su biglie magnetiche, per l'uso in test immunologici cellulo-mediati.

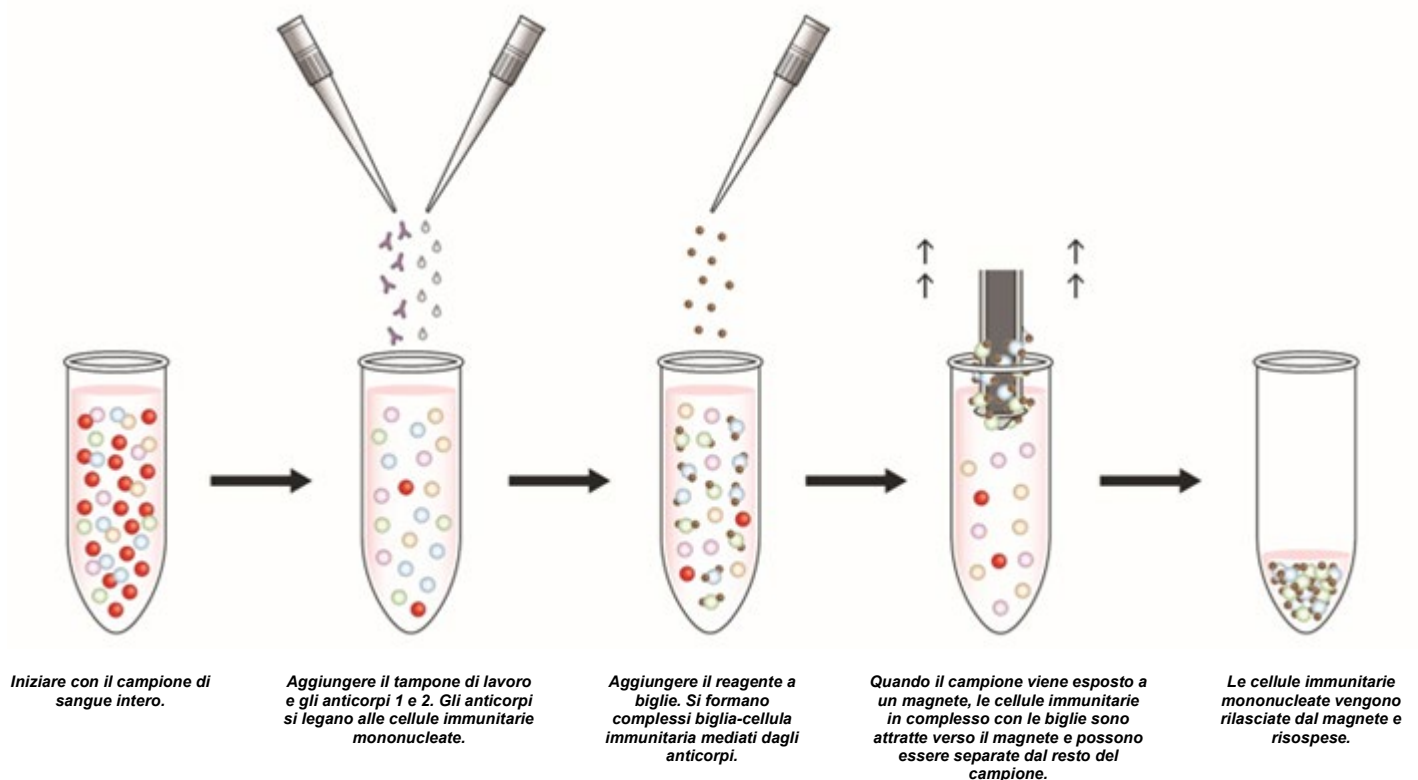
Introduzione

Per i test immunologici cellulo-mediati, come il test ELISPOT (*enzyme-linked immunospot*), le cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) vengono in genere isolate con metodiche di centrifugazione in gradiente di densità. Il kit T-Cell *Select* consente di isolare le PBMC mediante selezione positiva delle cellule immunitarie mononucleate con un sistema di separazione cellulare basato su biglie magnetiche. L'impiego di sistemi di separazione magnetica permette di automatizzare il processo di isolamento cellulare, con una significativa riduzione del tempo di intervento manuale richiesto per la preparazione del campione.

Le cellule isolate dal sangue conservate per un periodo fino a 54 ore utilizzando il kit T-Cell *Select* producono risultati equivalenti a quelli ottenuti con cellule isolate mediante centrifugazione in gradiente di densità e reagente T-Cell *Xtend*[®] come valutato nel test T-SPOT[®].*TB*.

Principio della metodica

L'impiego del kit T-Cell *Select* migliora la logistica e il flusso di lavoro per la preparazione delle PBMC da utilizzare nei test ELISPOT. Il kit contiene un set di reagenti proprietario, costituito da tampone concentrato, anticorpi e biglie superparamagnetiche. Il tampone T-Cell *Select* diluito viene aggiunto al campione di sangue intero per favorire la purificazione cellulare e ridurre la contaminazione eritrocitaria; successivamente vengono aggiunti gli anticorpi, che si legano alle cellule immunitarie previste nel campione. L'aggiunta di biglie superparamagnetiche determina la formazione di complessi con gli anticorpi legati alle cellule immunitarie. Le proprietà magnetiche delle biglie vengono sfruttate, con l'ausilio di un idoneo sistema di separazione magnetica validato, al fine di isolare le PBMC dal campione per il successivo utilizzo nel test ELISPOT. I laboratori devono validare la metodica di selezione positiva sulle proprie apparecchiature specifiche, compresi i volumi ematici appropriati e il numero di cicli di esposizione dei campioni al magnete.



Avvertenze e precauzioni

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*.
2. Soltanto per uso professionale; gli operatori devono essere addestrati a questa procedura.
3. I campioni ematici devono essere considerati potenzialmente pericolosi. Prestare attenzione durante la manipolazione di prodotti di origine umana.
4. La manipolazione dei campioni di sangue intero e dei componenti del test, durante l'uso, la conservazione e lo smaltimento deve essere eseguita in conformità alle procedure definite dalle direttive o dai regolamenti nazionali appropriati per la protezione contro i rischi biologici.
5. Ogni variazione alle tecniche di pipettatura e di lavaggio indicate, ai tempi e/o alle temperature di incubazione può influenzare i risultati dei test.
6. Non raccogliere il sangue in provette per la raccolta di sangue con EDTA.
7. Non refrigerare o congelare i campioni di sangue intero. Conservare e trasportare i campioni di sangue al laboratorio a una temperatura compresa tra 18 e 25 °C.
8. Non diluire o aggiungere altri componenti direttamente ai reagenti T-Cell *Select* in deroga alle istruzioni contenute nel presente foglio illustrativo.
9. Validare qualsiasi apparecchiatura di laboratorio tramite il protocollo di laboratorio prima di utilizzare il kit T-Cell *Select*.
10. Usare esclusivamente contenitori monouso per la raccolta di campioni di sangue venoso.
11. Non miscelare reagenti diversi provenienti da lotti diversi nel campione di un singolo paziente.
12. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
13. Non utilizzare con campioni di sangue intero conservati per più di 54 ore.
14. Utilizzare tecniche asettiche durante l'impiego di questo prodotto.
15. Non utilizzare se i flaconcini appaiono danneggiati o già aperti.
16. Non utilizzare se il colore del liquido all'interno dei flaconcini risulta alterato o con presenza di precipitato.
17. Anticorpo 1 e Anticorpo 2 contengono sostanze di origine animale potenzialmente infettive. Nelle normali condizioni di utilizzo, queste sostanze non entrano in contatto con l'utente.

Materiali in dotazione

Ogni confezione contiene:

Kit da 144 test*

Reagente	Quantità
Tampone concentrato (BU.910)	1 x 50 mL
Anticorpo (AC.910)1	3 x 2 mL
Anticorpo 2 (AH.910)	3 x 2 mL
Reagente a biglie (BR.910)	1 x 10 mL

*Vedere la sezione *Limitazioni* che contiene una nota importante sulla quantità di test per kit.

Conservazione e stabilità del prodotto

Conservare i kit T-Cell *Select* integri a una temperatura di 2-8 °C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Dopo l'apertura, conservare i flaconcini dei reagenti T-Cell *Select* risigillati a una temperatura di 2-8 °C e utilizzarli entro 4 settimane dall'apertura, a meno che tale periodo non superi la data di scadenza riportata sulla confezione. Non miscelare componenti di lotti di kit diversi.

Attrezzature e materiali necessari ma non forniti

1. Provette per la raccolta di sangue; si raccomanda l'utilizzo di provette con litio eparina o sodio eparina o provette con sodio citrato.
2. Acqua distillata o deionizzata.
3. Terreno di coltura cellulare sterile privo di siero, ad esempio Gibco® AIM-V®.
4. Terreno RPMI 1640.
5. L'idonea attrezzatura di purificazione a particelle magnetiche deve essere convalidata per l'uso dal laboratorio, ad esempio:
 - Strumento a barra e testa magnetiche per immersione, compatibile per l'uso con micropiastra a pozzetti profondi
 - Magnete a blocco con cavità per provette
 - Base per piastra magnetica, compatibile per l'uso con micropiastra a pozzetti profondi

6. Provette o contenitori compatibili con il sistema di separazione magnetica del laboratorio.
7. Pipette e puntali per pipette sterili.
8. Timer.
9. Cabina di sicurezza biologica di classe II (BL 2) (raccomandata).

Procedura

I singoli laboratori devono convalidare le rispettive procedure per la raccolta e la separazione delle cellule immunitarie mononucleate per ottenere numeri sufficienti. Questa procedura dimostra il metodo di isolamento con T-Cell *Select* da utilizzare con strumenti di laboratorio convalidati. Il volume di sangue per campione deve essere convalidato con lo strumento utilizzato. Le fasi 11, 12 e 16 (ed eventuali cicli aggiuntivi di esposizione magnetica) possono essere ottimizzate per il sistema magnetico utilizzato entro i tempi previsti. La validazione deve garantire che vengano isolate quantità adeguate di PBMC da usare nel test ELISPOT richiesto.

Nota:

Eseguire i seguenti passaggi in conformità ai principi di Buona pratica di laboratorio.

Assicurarsi che tutti i reagenti siano a temperatura ambiente prima dell'uso.

1. Miscelare accuratamente il campione ematico.
2. Aliquotare il sangue in un contenitore compatibile con il sistema di separazione magnetica del proprio laboratorio. Si utilizzano in genere 3,5-5 mL di sangue per campione al fine di ottenere un numero di cellule sufficiente per le procedure ELISPOT.
3. Diluire il tampone concentrato T-Cell *Select* in acqua distillata o deionizzata in rapporto di 2:3, concentrato di tampone:acqua distillata o deionizzata.
4. Aggiungere il tampone T-Cell *Select* al sangue intero in rapporto 1:7, tampone:sangue.
5. Aggiungere 10 µL di anticorpo 1 per mL del volume combinato di sangue intero e tampone.
6. Aggiungere 10 µL di anticorpo 2 per mL del volume combinato di sangue intero e tampone.
7. Miscelare il campione accuratamente.
8. Incubare il tampone per 15 minuti a temperatura ambiente.
9. Miscelare con cura il reagente a biglie immediatamente prima dell'uso. Aggiungere 15 µL di reagente a biglie per mL del volume combinato di sangue intero e tampone.
10. Miscelare il campione delicatamente.
11. Incubare il campione per 15 minuti a temperatura ambiente, miscelando almeno ogni 5 minuti.
12. Esporre il campione a un magnete idoneo per un minimo di 10 minuti. (Nota: il tempo di incubazione deve essere validato in associazione al sistema di magnete utilizzato.) Le cellule marcate con anticorpi migrano verso il magnete.
13. Eliminare il surnatante secondo la procedura del proprio laboratorio, facendo attenzione a conservare le biglie con le cellule attaccate che sono migrate verso il magnete.
14. Rimuovere il campione dal campo magnetico.
15. Aggiungere un volume di RPMI pari al volume originario di sangue intero e tampone T-Cell *Select* diluito alle cellule rimanenti. Miscelare per risospendere il campione.
16. Esporre il campione a un magnete idoneo per un minimo di 10 minuti. (Nota: il tempo di incubazione deve essere validato in associazione al sistema di magnete utilizzato.) Le cellule marcate con anticorpi migrano verso il magnete.
17. Eliminare il surnatante secondo la procedura del proprio laboratorio, facendo attenzione a conservare le biglie con le cellule attaccate che sono migrate verso il magnete.
18. Rimuovere il campione dal campo magnetico.
19. Risospendere accuratamente il campione nel terreno AIM-V per ottenere una concentrazione cellulare finale di almeno $2,5 \times 10^6$ /ml. Il campione è pronto per il conteggio delle cellule e per l'utilizzo nelle procedure ELISPOT (nota: il campione può essere esposto al magnete per ulteriori cicli prima dell'aggiunta del terreno AIM-V qualora siano stati validati più cicli con il sistema di magnete utilizzato).

Nota: i singoli laboratori devono validare le proprie procedure di raccolta e separazione delle cellule immunitarie mononucleate al fine di ottenere un numero di cellule sufficiente. I laboratori devono validare i propri sistemi di separazione magnetica e le altre apparecchiature utilizzate nella procedura di isolamento cellulare. Seguire le raccomandazioni sotto riportate:

- Le cellule di un paziente possono essere combinate, se necessario, per ottenere un numero sufficiente di cellule da più provette di sangue raccolte e processate entro 54 ore.
- Di norma, per adulti e bambini di età superiore a 2 anni immunocompetenti, è possibile ottenere una quantità sufficiente di cellule per eseguire le procedure dei test immunologici cellulo-mediati da campioni di 3,5 mL di sangue intero.

Per i bambini fino a 2 anni di età, deve essere utilizzata una provetta pediatrica da 2 mL.

Limitazioni

1. Sebbene i kit T-Cell *Select* siano indicati per 144 test, il numero di test che ogni laboratorio è in grado di eseguire con ciascun kit può differire. Diverse variabili influiscono sulla quantità di reagenti necessaria e quindi sul numero di test supportati da ciascun kit, tra queste le apparecchiature di laboratorio utilizzate, il volume di sangue iniziale e il numero di cicli di esposizione dei campioni al magnete.
2. Il kit T-Cell *Select*TM è destinato all'isolamento delle cellule mononucleate dal sangue intero per l'uso in procedure di test immunologici cellulo-mediati. Non è un test diagnostico in sé. I risultati dei test devono essere interpretati unitamente ai risultati del test diagnostico utilizzato.

Controllo di qualità

- I test condotti internamente non hanno evidenziato una differenza significativa nelle popolazioni di cellule immunitarie mononucleate ottenute dal sangue intero con l'uso del kit T-Cell *Select*, rispetto alle metodiche di separazione in gradiente di densità.
- Nell'ambito dell'attività di controllo di qualità del singolo laboratorio, devono essere concepite e validate metodiche di separazione magnetica e conteggio cellulare in grado di assicurare l'ottenimento di cellule immunitarie mononucleate sufficienti per il test diagnostico pertinente.
- Devono essere previsti opportuni controlli positivi e negativi per assicurare che le cellule mononucleate preparate mediante separazione magnetica abbiano le performance attese nel test diagnostico.

Caratteristiche di performance

Sono stati condotti studi clinici per dimostrare le performance del test T-SPOT.*TB* con l'utilizzo di cellule isolate con il kit T-Cell *Select* da sangue conservato fino a 54 ore dopo la venipuntura, in un contesto sia ad alta sia a bassa endemicità. I campioni divisi sono stati processati utilizzando il kit T-Cell *Select* (tempo di conservazione: 0-54 ore) e centrifugazione in gradiente di densità (tempo di conservazione 0-32 ore).

La concordanza complessiva per i dati dello studio clinico tra il test T-SPOT.*TB*, il kit T-Cell *Select* e il metodo di separazione in gradiente di densità è stata pari al 97% (644/664) [IC al 95%: 95,4-98,2%].

Tra l'esiguo numero di risultati discordanti rilevati tra le metodiche, si è osservato che alcuni risultati negativi da campioni con cellule isolate mediante centrifugazione a densità standard, che risultavano positivi con l'impiego del kit T-Cell *Select*, alla successiva conferma microbiologica si sono rivelati positivi per la TB (n = 6). Ciò indica che il metodo di isolamento cellulare con selezione positiva può conferire una maggiore sensibilità al test T-SPOT.*TB*.

Segnalazione di incidenti seri

Qualora in relazione a questo dispositivo si produca un incidente serio, dovrà essere segnalato al Servizio clienti. Negli Stati membri dell'Unione europea, gli incidenti seri devono essere segnalati anche alle autorità competenti (ufficio governativo responsabile dei dispositivi medici diagnostici in vitro) nel Paese di appartenenza. Consultare il sito web del Paese di appartenenza per maggiori informazioni su come contattare le autorità competenti. Con "incidente grave" si intende qualsiasi incidente che abbia portato, che avrebbe potuto portare o che potrebbe portare direttamente o indirettamente a:












- decesso del paziente, utente o altra persona;
- seria compromissione temporanea o permanente dello stato di salute del paziente, utente o altra persona;
- seria minaccia per la salute pubblica.

Informazioni di contatto del Servizio clienti

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

Per scaricare documentazioni di supporto sui prodotti e altre informazioni tecniche, visitare il nostro sito web:
www.oxfordimmunotec.com

Glossario dei simboli

	Utilizzare entro/Data di scadenza (anno-mese-giorno)
	Numero di lotto
	Numero di catalogo
	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Sufficiente per "n" test
	Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>
	Limite di temperatura/Conservare entro
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Tenere al riparo dalla luce solare
	Rappresentante UE autorizzato

T-SPOT, T-Cell *Xtend* e il logo Oxford Immunotec sono marchi registrati di Oxford Immunotec Ltd.
T-Cell *Select* è un marchio di Oxford Immunotec Ltd.
AIM-V e GIBCO sono marchi registrati di Life Technologies Corporation.

L'utilizzo dei reagenti T-Cell *Xtend* e T-Cell *Select* è protetto dai seguenti brevetti depositati:
EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2022, Oxford Immunotec. Tutti i diritti riservati.

■ **Fabbricante:**

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

EC REP Rappresentante UE autorizzato:

Oxford Immunotec (Ireland)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
Repubblica di Irlanda

Numero revisione	Data di pubblicazione	Modifiche
1 -5	Informazioni disponibili su richiesta da Oxford Immunotec.	
6	Giugno 2022	Modifica dell'indirizzo del fabbricante. Aggiunta della cronologia delle modifiche. Aggiunta di istruzioni per la segnalazione di incidenti seri, dei dettagli del Rappresentante UE e dell'importatore per l'Unione Europea
7	Ottobre 2022	Cancellazione dei dettagli dell'importatore UE



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



www.oxfordimmunotec.com