

T-Cell Select™



Para uso en la preparación de células inmunitarias mononucleares purificadas directamente a partir de sangre completa

PROSPECTO

Para uso diagnóstico *in vitro*

Este prospecto cubre el uso de:

T-Cell *Select* (número de catálogo: TSK.910)

Uso previsto

El kit T-Cell *Select*[™] está destinado al aislamiento de células inmunitarias mononucleares de sangre completa, utilizando la selección positiva a través de un sistema de separación celular basado en microesferas magnéticas, para el uso en ensayos inmunológicos mediados por células.

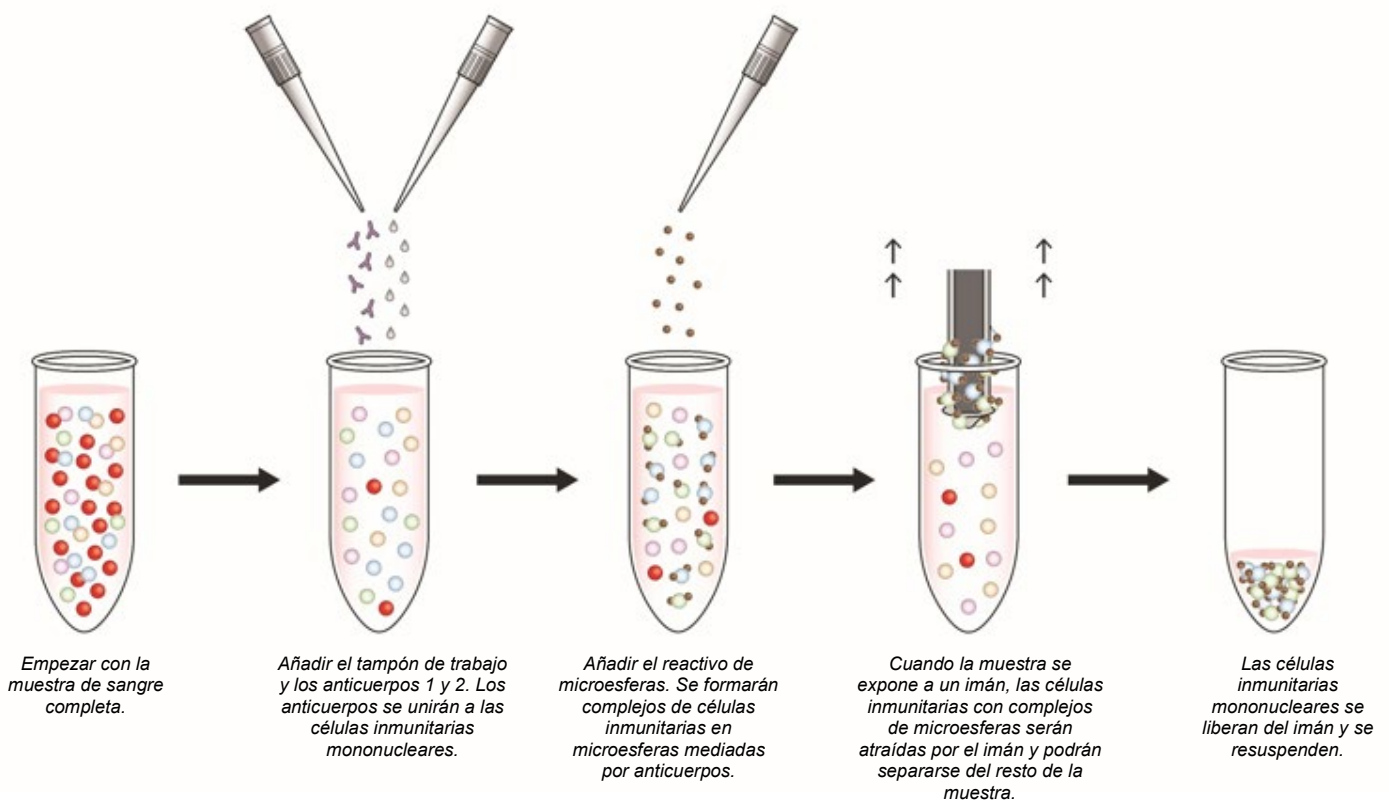
Introducción

Para los ensayos inmunológicos mediados por células, como los ensayos de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISPOT), las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) se aíslan normalmente utilizando métodos de centrifugación por gradiente de densidad. El kit T-Cell *Select* permite aislar las PBMC mediante la selección positiva de las células inmunitarias mononucleares con un sistema de separación celular basado en microesferas magnéticas. El uso de sistemas de separación magnética permite la automatización del proceso de aislamiento celular, lo que reduce significativamente el tiempo de trabajo necesario para la preparación de la muestra.

Las células aisladas de la sangre almacenada hasta 54 horas con el kit T-Cell *Select* producen resultados equivalentes a las aisladas mediante centrifugación por gradiente de densidad y el reactivo T-Cell *Xtend*[®], tal como se evalúa en la prueba T-SPOT[®].*TB*

Principio del Método

El uso del kit T-Cell *Select* mejora la logística y el flujo de trabajo de la preparación de PBMC para el uso en ensayos ELISPOT. El kit contiene un conjunto patentado de reactivos que consiste en un concentrado de tampón, anticuerpos y microesferas superparamagnéticas. El tampón T-Cell *Select* diluido se añade a la muestra de sangre completa para facilitar la purificación de las células y reducir la contaminación de glóbulos rojos, y después se añaden anticuerpos que se unen a las células inmunitarias requeridas en la muestra. La adición de microesferas superparamagnéticas da lugar a la formación de complejos con los anticuerpos unidos a las células inmunitarias. Las propiedades magnéticas de las microesferas se utilizan, con la ayuda de un sistema de separación magnética adecuado y validado, para aislar las PBMC de la muestra para su posterior uso en el ensayo ELISPOT. Los laboratorios deben validar el método de selección positiva en su propio equipo específico, incluyendo los volúmenes de sangre apropiados y el número de ciclos que las muestras se exponen al imán.



Advertencias y Precauciones

1. Para uso en diagnóstico *in vitro* únicamente.
2. Para uso profesional únicamente; debe formarse a los operadores para llevar a cabo el procedimiento.
3. Las muestras de sangre deben ser consideradas potencialmente peligrosas. Se debe tener cuidado al manipular material de origen humano.
4. La manipulación de muestras de sangre completa y componentes para la prueba, durante su utilización, almacenamiento y eliminación, debe realizarse de conformidad con los procedimientos definidos en las pautas o los reglamentos nacionales correspondientes sobre seguridad y riesgo biológico.
5. Toda desviación de los procedimientos recomendados de pipeteo, técnicas de lavado, tiempos de incubación y/o temperaturas puede influir en los resultados de las pruebas.
6. No recoger sangre en tubos de recogida de sangre de EDTA.
7. No refrigerar ni congelar las muestras de sangre completa. Conservar y transportar las muestras de sangre en el laboratorio entre 18 y 25 °C.
8. No diluir ni añadir otros componentes directamente a los reactivos T-Cell *Select* que no consten en las instrucciones de este prospecto.
9. Validar cualquier equipo de laboratorio mediante el protocolo del laboratorio antes de utilizar el kit T-Cell *Select*.
10. Usar solo recipientes de un solo uso para la recogida de muestras de sangre venosa.
11. No mezclar diferentes reactivos de diferentes lotes en una misma muestra de paciente.
12. No utilizar una vez pasada la fecha de caducidad.
13. No utilizar con una muestra de sangre completa que haya sido almacenada durante más de 54 horas.
14. Utilizar técnicas asépticas con este producto.
15. No utilizar si los viales parecen estar dañados o ya abiertos.
16. No utilizar si el líquido que hay dentro de los viales aparece descolorido o tiene precipitados.
17. El anticuerpo 1 y el anticuerpo 2 contienen sustancias de origen animal que son potencialmente infecciosas. En condiciones normales de uso, estas sustancias no entran en contacto con el usuario.

Materiales que se Incluyen

Cada caja contiene:

144 kits de pruebas*

| Reactivo | Cantidad |
|-----------------------------------|-----------|
| Concentrado de Tampón (BU.910) | 1 x 50 mL |
| Anticuerpo 1 (AC.910) | 3 x 2 mL |
| Anticuerpo 2 (AH.910) | 3 x 2 mL |
| Reactivo de Microesferas (BR.910) | 1 x 10 mL |

*consulte la sección Limitaciones respecto a una nota importante sobre la cantidad de pruebas por kit

Conservación y Estabilidad

Conservar los kits de T-Cell *Select* sin abrir entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la caja. Conservar los viales abiertos y resellados de los reactivos de T-Cell *Select* a 2 a 8 °C, y usar dentro de las 4 semanas siguientes a su apertura, salvo que este período supere la fecha de caducidad indicada en la caja. No mezclar componentes entre diferentes lotes de kits.

Equipos y Materiales Necesarios pero no Incluidos

1. Tubos de recogida de sangre; se recomienda el uso de tubos de heparina de litio o sodio o tubos de citrato de sodio.
2. Agua destilada o desionizada.
3. Medio de cultivo celular estéril sin suero, como el medio AIM-V® de Gibco®.
4. Medio RPMI 1640.
5. El laboratorio debe validar un sistema de purificación magnética de partículas para el uso, como:
 - - Un instrumento con punta de varilla magnética sumergida, compatible con el uso de una microplaca de pocillos profundos
 - - Un imán de bloque con cavidad para tubos de ensayo
 - Una base magnética de placa, compatible para el uso con una microplaca de pocillos profundos
6. Tubos o recipientes compatibles con el sistema de separación magnética del laboratorio.
7. Pipetas y puntas de pipetas estériles.
8. Temporizador.
9. Campana con nivel 2 de bioseguridad (BL 2) (recomendado).

Procedimiento

Los laboratorios individuales deben validar sus procedimientos de recogida y separación de células inmunitarias mononucleares para obtener un número suficiente. Este procedimiento demuestra el método de aislamiento T-Cell *Select* para el uso con equipos validados por el laboratorio. El volumen de sangre por muestra debe validarse con el equipo utilizado. Los pasos 11, 12 y 16 (y cualquier ciclo adicional de exposición magnética) pueden optimizarse para el sistema magnético utilizado dentro de los tiempos previstos. La validación debe garantizar que se aíslan las cantidades adecuadas de PBMC para el uso en el ensayo ELISPOT requerido.

Nota:

Los siguientes pasos deben llevarse a cabo siguiendo los principios de Buenas Prácticas de Laboratorio: Procurar que todos los reactivos estén a temperatura ambiente antes del uso.

1. Mezclar bien la muestra de sangre.
2. Preparar alícuotas de la sangre en un recipiente compatible con el sistema de separación magnética de su laboratorio. Normalmente se utilizan 3,5-5 mL de sangre por muestra para obtener un número suficiente de células para usar en los procedimientos ELISPOT.
3. Diluir el Concentrado de Tampón T-Cell *Select* en agua destilada o desionizada en la proporción 2:3, concentrado de tampón:agua destilada o desionizada.
4. Añadir el Tampón T-Cell *Select* diluido a la sangre completa en la proporción 1:7, tampón:sangre.
5. Añadir 10 µL del Anticuerpo 1 por mL del volumen combinado de sangre completa y tampón.
6. Añadir 10 µL del Anticuerpo 2 por mL del volumen combinado de sangre completa y tampón.
7. Mezclar bien la muestra.
8. Incubar la muestra durante 15 minutos a temperatura ambiente.
9. Mezclar bien el Reactivo de Microesferas inmediatamente antes de usarlo. Añadir 15 µL del Reactivo de Microesferas por mL de volumen combinado de sangre completa y tampón.
10. Mezclar suavemente la mezcla.
11. Incubar la muestra durante 15 minutos a temperatura ambiente mezclando al menos cada 5 minutos.
12. Exponer la muestra a un imán adecuado durante un mínimo de 10 minutos (Nota: el tiempo de incubación debe validarse junto con el sistema de imanes utilizado). Las células marcadas con anticuerpos migrarán hacia el imán.
13. Desechar el sobrenadante siguiendo el procedimiento de su laboratorio, procurando retener las microesferas con células adheridas que han migrado hacia el imán.
14. Retirar la muestra del campo magnético.
15. Añadir un volumen de RPMI a las células restantes igual al volumen original de la sangre completa y el tampón T Cell *Select* diluido. Mezclar para resuspender la muestra.
16. Exponer la muestra a un imán adecuado durante un mínimo de 10 minutos (Nota: el tiempo de incubación debe validarse junto con el sistema de imanes utilizado). Las células marcadas con anticuerpos migrarán hacia el imán.
17. Desechar el sobrenadante siguiendo el procedimiento de su laboratorio, procurando retener las microesferas con las células adheridas que han migrado hacia el imán.
18. Retirar la muestra del campo magnético.
19. Resuspender completamente la muestra en el medio AIM-V para conseguir una concentración celular final de al menos $2,5 \times 10^6/\text{mL}$. La muestra está lista para el recuento celular y para usar en los procedimientos ELISPOT (Nota: la muestra puede exponerse al imán durante ciclos adicionales antes de añadir el medio AIM-V si se validan más ciclos con el sistema de imán utilizado).

Nota: Los laboratorios a nivel individual deben validar sus procedimientos de recogida y separación de células inmunitarias mononucleares para obtener un número suficiente de células. Los laboratorios deben validar sus sistemas de separación magnética y cualquier otro equipo utilizado en el procedimiento de aislamiento celular. Se recomienda que:

- Las células de un paciente puedan agruparse, si es necesario, para obtener suficientes células de múltiples tubos de sangre que se hayan recogido y procesado en un plazo de 54 horas.
- Normalmente, para adultos inmunocompetentes y niños mayores de 2 años, pueden obtenerse células suficientes para realizar los procedimientos de inmunoensayo mediados por células a partir de 3.5 mL de muestras de sangre completa.

En el caso de niños de hasta 2 años, debe utilizarse un tubo pediátrico de 2 mL.

Limitaciones

1. Aunque los kits T-Cell *Select* están indicados para 144 pruebas, el número de pruebas que cada laboratorio puede realizar con cada kit será diferente. Múltiples variables afectan a la cantidad de reactivos que se necesitarán y, por tanto, al número de pruebas que admite cada kit. Dichas variables pueden incluir el equipo de laboratorio utilizado, el volumen inicial de sangre y el número de ciclos de exposición de las muestras al imán.
2. El kit T-Cell *Select* está concebido para el uso en el aislamiento de células mononucleares procedentes de sangre completa para usar en procedimientos de inmunoensayo mediados por células. No es una prueba de diagnóstico en sí misma. Los resultados de la prueba deben interpretarse junto con los resultados de la prueba diagnóstica que se utilice.

Control de Calidad

- Las pruebas internas no han demostrado diferencias significativas en las poblaciones de células inmunitarias mononucleares obtenidas de sangre completa con el uso del kit T-Cell *Select* en comparación con los métodos de separación por gradiente de densidad.
- En el marco de la actividad de control de calidad de un laboratorio individual, deben diseñarse y validarse métodos de separación magnética y de recuento celular para garantizar que se puedan obtener suficientes células inmunitarias mononucleares para el ensayo de diagnóstico pertinente.
- Deben incluirse controles positivos y negativos pertinentes para garantizar que las células mononucleares preparadas por separación magnética ofrezcan los resultados esperados en el ensayo de diagnóstico.

Características de Rendimiento

Se realizaron estudios clínicos para demostrar el rendimiento de la prueba T-SPOT.TB utilizando células aisladas con el kit T-Cell *Select* a partir de sangre conservada hasta 54 horas tras la venopunción, tanto en un entorno endémico alto como bajo. Las muestras divididas se procesaron utilizando el kit T-Cell *Select* (0-54 horas de conservación) y la centrifugación por gradiente de densidad (0-32 horas de conservación).

La concordancia global de los datos del estudio clínico entre el ensayo T-SPOT.TB entre el kit T-Cell *Select* y el método de separación por gradiente de densidad fue del 97 % (644/664) [95 % CI 95,4-98,2 %].

Entre la pequeña cifra de resultados discordantes entre los métodos, se observó que varios resultados negativos de muestras con células aisladas por el método estándar de centrifugación por densidad que resultaron positivos al utilizar los kits T-Cell *Select*, se determinaron posteriormente como positivos TB confirmados microbiológicamente (n=6). Esto indica que el método de aislamiento de células de selección positiva puede conferir una mayor sensibilidad en el ensayo T-SPOT.TB.

Notificación de incidentes graves

Si se ha producido un incidente grave en relación con este dispositivo, debe notificarse al Servicio de Atención al Cliente. En los Estados Miembros de la Unión Europea, los incidentes graves también deben notificarse a la autoridad competente (el departamento gubernamental responsable de los productos sanitarios de diagnóstico in vitro) de su país. Consulte el sitio web de su gobierno para saber cómo contactar con la autoridad competente. Por "incidente grave" se entiende cualquier incidente que directa o indirectamente haya provocado, pueda haber provocado o pueda provocar:












- la muerte de un paciente, usuario u otra persona;
- el deterioro grave, temporal o permanente, del estado de salud de un paciente, usuario u otra persona;
- una amenaza grave para la salud pública.

Información de contacto

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

Para descargas de documentos del producto y más información técnica, visite nuestro sitio web:
www.oxfordimmunotec.com

Lista de Símbolos

| | |
|--|---|
|  | Uso preferente/Fecha de caducidad (año-mes-día) |
|  | Número de lote |
|  | Número de catálogo |
|  | Atención, ver las instrucciones de uso |
|  | Fabricante |
|  | Suficiente para "n" pruebas |
|  | Dispositivo de diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Límites de temperatura/Conservar entre |
|  | Consultar las instrucciones de uso |
|  | Mantener alejado de la luz solar |
|  | Representante autorizado de la UE |

T-SPOT, T-Cell *Xtend* y el logotipo de Oxford Immunotec son marcas comerciales registradas de Oxford Immunotec Ltd.

T-Cell *Select* es una marca comercial registrada de Oxford Immunotec Ltd.

AIM-V y GIBCO son marcas comerciales registradas de Life Technologies Corporation.

El uso de los reactivos T-Cell *Xtend* y T-Cell *Select* está protegido por las siguientes patentes: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023, Oxford Immunotec. Reservados todos los derechos.

Fabricante:

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

Representante autorizado de la UE:

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

| Número de revisión | Fecha de emisión | Modificaciones |
|--------------------|---|---|
| 1-5 | Detalles disponibles bajo solicitud a Oxford Immunotec. | |
| 6 | Junio 2022 | Cambio de la dirección del fabricante. Adición del historial de revisiones. Adición de instrucciones para notificar incidentes graves, los datos del Representante autorizado de la UE y del Importador de la UE. |
| 7 | Octubre 2022 | Eliminación de la información del Importador de la UE |
| 8 | diciembre 2023 | Eliminación de "una empresa PerkinElmer" del logotipo |



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



www.oxfordimmunotec.com

PI-TS-IVD-ES-V8