

T-Cell Select™



Pour utilisation en vue de la préparation de cellules immunitaires mononuclées purifiées
directement à partir de sang total

NOTICE

Pour usage diagnostique *in vitro*

Cette notice concerne l'utilisation du produit suivant :

T-Cell *Select* (Numéro de catalogue : TSK.910)

Utilisation prévue

Le kit T-Cell *Select*[™] est conçu pour la mise en place de l'isolement des cellules immunitaires mononucléées à partir de sang total, à l'aide d'une sélection positive par un système de séparation cellulaire par billes magnétiques, pour une utilisation dans le cadre d'essais immunologiques à médiation cellulaire.

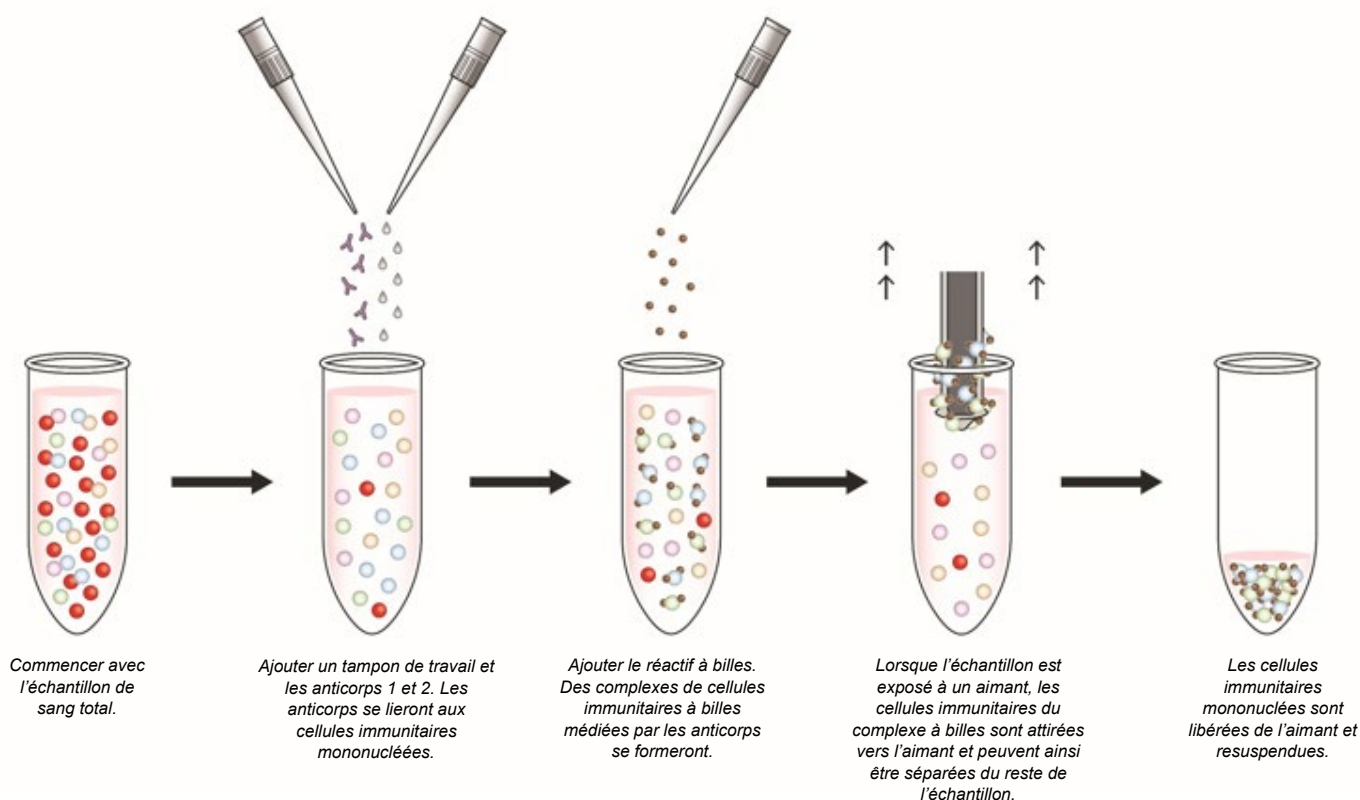
Introduction

Pour les essais immunologiques à médiation cellulaire, comme les essais immuno-enzymatique immunospot (ELISPOT), les cellules mononucléées du sang périphérique (CMSP) sont généralement isolées à l'aide de méthodes de centrifugation en gradient de densité. Le kit T-Cell *Select* permet d'isoler les CMSP à l'aide d'une sélection positive des cellules immunitaires mononucléées à l'aide d'un système de séparation cellulaire par billes magnétiques. L'utilisation de systèmes de séparation magnétique permet l'automatisation de la procédure d'isolement des cellules, ce qui réduit significativement la durée de manipulation nécessaire à la préparation des échantillons.

Les cellules isolées à partir de sang conservé pendant un maximum de 54 heures à l'aide du kit T-Cell *Select* génèrent des résultats équivalents à ceux obtenus avec des cellules isolées par centrifugation en gradient de densité et à l'aide du réactif T-Cell *Xtend*[®] lors de l'évaluation par le test T-SPOT[®].TB.

Principe de la méthode

L'utilisation du kit T-Cell *Select* améliore la logistique et le déroulement de la préparation des CMSP en vue de leur utilisation dans les essais ELISPOT. Le kit contient un ensemble de réactifs brevetés comprenant un tampon concentré, des anticorps et des billes superparamagnétiques. Le tampon dilué de T-Cell *Select* est ajouté à l'échantillon de sang total pour faciliter la purification des cellules et réduire la contamination par des érythrocytes, les anticorps qui se fixent aux cellules immunitaires visées dans l'échantillon sont ensuite ajoutés. L'ajout des billes superparamagnétiques entraîne la formation de complexes avec les anticorps liés aux cellules immunitaires. Les propriétés magnétiques des billes sont utilisées, à l'aide d'un système de séparation magnétique validé et adapté, pour isoler les CMSP à partir d'un échantillon en vue de leur utilisation ultérieure dans l'essai ELISPOT. Les laboratoires doivent valider la méthode de sélection positive avec leur propre équipement spécifique, ainsi que les volumes de sang appropriés et le nombre de cycles d'exposition des échantillons à l'aimant.



Mises en garde et précautions d'emploi

1. Pour une utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Réservé à un usage professionnel ; les opérateurs doivent avoir été formés à cette procédure.
3. Les échantillons de sang doivent être considérés comme potentiellement dangereux. Il convient d'être particulièrement prudent lors de la manipulation de produits d'origine humaine.
4. La manipulation des échantillons de sang total et des composants du test, pendant leur utilisation, leur conservation et leur élimination, doit respecter les procédures définies par les directives ou réglementations nationales relatives aux risques biologiques.
5. Le non-respect des procédures recommandées pour le pipetage, les techniques de lavage, les temps et/ou les températures d'incubation pourrait influencer sur les résultats du test.
6. Ne pas prélever de sang dans des tubes de prélèvement sanguin contenant de l'EDTA.
7. Ne pas réfrigérer ni congeler les échantillons de sang total. Conserver et transporter les échantillons de sang vers le laboratoire à une température comprise entre 18 et 25 °C.
8. Ne pas diluer ni ajouter d'autres composants directement aux réactifs de T-Cell *Select* qui ne seraient pas mentionnés dans les instructions de cette notice.
9. Valider tout équipement de laboratoire selon le protocole de l'établissement avant d'utiliser le kit T-Cell *Select*.
10. Utiliser uniquement des récipients à usage unique pour le prélèvement d'échantillon de sang veineux.
11. Ne pas mélanger différents lots de réactifs dans l'échantillon d'un même patient.
12. Ne pas utiliser après la date de péremption.
13. Ne pas utiliser avec un échantillon de sang total qui a été conservé pendant plus de 54 heures.
14. Travailler dans des conditions d'asepsie lors de l'utilisation de ce produit.
15. Ne pas utiliser si les flacons semblent être endommagés ou déjà ouverts.
16. Ne pas utiliser si le liquide contenu dans les flacons semble décoloré ou si un précipité s'est formé.
17. L'anticorps 1 et l'anticorps 2 contiennent des substances d'origine animale potentiellement infectieuses. Dans des conditions normales d'utilisation, ces substances n'entrent pas en contact avec l'utilisateur.

Matériel fourni

Chaque boîte contient :

Kit de 144 tests*

Réactif	Quantité
Tampon concentré (BU.910)	1 x 50 mL
Anticorps 1 (AC.910)	3 x 2 mL
Anticorps 2 (AH.910)	3 x 2 mL
Réactifs à billes (BR.910)	1 x 10 mL

*se reporter à la section *Limites pour une remarque importante sur la quantité de tests par kit*

Conservation et stabilité

Conserver les kits non ouverts de T-Cell *Select* entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur la boîte. Conserver les flacons ouverts et refermés de réactifs de T-Cell *Select* entre 2 et 8 °C et les utiliser dans les 4 semaines qui suivent l'ouverture sauf si cette période dépasse la date de péremption indiquée sur la boîte. Ne pas mélanger les composants de kits issus de lots différents.

Équipement et matériel nécessaires, mais non fournis

1. Tubes de prélèvement sanguin ; l'utilisation de tubes contenant de l'héparine de lithium ou de sodium ou de citrate de sodium est recommandée.
2. Eau distillée ou déionisée.
3. Milieu de culture cellulaire sans sérum stérile, tel que le milieu Gibco® AIM-V®.
4. Milieu RPMI 1640.
5. L'équipement approprié de purification par particules magnétiques doit être validé par le laboratoire pour son utilisation, tel que :
 - Un instrument avec tête de tige magnétique immergée, compatible avec une microplaque à puits profonds
 - Un aimant bloc avec cavité de tube à essai
 - Une embase magnétique pour plaque, compatible avec une microplaque à puits profonds

6. Tubes ou récipients compatibles avec le système de séparation magnétique du laboratoire.
7. Pipettes et embouts de pipette stériles.
8. Chronomètre.
9. Enceinte de biosécurité de classe 2 (BL-2) (recommandé).

Procédure

Les différents laboratoires doivent valider leurs procédures de prélèvement et de séparation des cellules immunitaires mononuclées pour obtenir un nombre suffisant. Cette procédure illustre la méthode d'isolement T-Cell *Select* à utiliser avec un équipement validé en laboratoire. Le volume sanguin par échantillon doit être validé avec l'équipement utilisé. Les étapes 11, 12 et 16 (et tous les autres cycles d'exposition magnétique) peuvent être optimisés pour le système magnétique utilisé dans les délais impartis. La validation doit garantir que des quantités appropriées de CMSP sont isolées pour être utilisées dans le test ELISPOT requis.

Remarque :

Les étapes suivantes doivent être effectuées selon les principes des bonnes pratiques de laboratoire.

S'assurer que tous les réactifs sont à température ambiante avant utilisation.

1. Bien mélanger l'échantillon de sang.
2. Aliquoter le sang dans un récipient compatible avec le système de séparation magnétique de votre laboratoire. En général, de 3,5 à 5 mL de sang par échantillon sont utilisés pour obtenir un nombre de cellules suffisant dans le cadre d'une utilisation dans les procédures ELISPOT.
3. Diluer le tampon concentré de T-Cell *Select* dans de l'eau distillée ou déionisée selon un rapport de 2:3, tampon concentré:eau distillée ou déionisée.
4. Ajouter le tampon dilué de T-Cell *Select* au sang total selon un rapport de 1:7, tampon:sang.
5. Ajouter 10 µL d'Anticorps 1 par mL du volume combiné de sang total et de tampon.
6. Ajouter 10 µL d'Anticorps 2 par mL du volume combiné de sang total et de tampon.
7. Bien mélanger l'échantillon.
8. Incuber l'échantillon pendant 15 minutes à température ambiante.
9. Bien mélanger le réactif à billes immédiatement avant utilisation. Ajouter 15 µL de réactif à billes par ml du volume combiné de sang total et de tampon.
10. Mélanger délicatement l'échantillon.
11. Incuber l'échantillon pendant 15 minutes à température ambiante en mélangeant au moins toutes les 5 minutes.
12. Exposer l'échantillon à un aimant adapté pendant 10 minutes au minimum (Remarque : la durée d'incubation doit être validée en relation avec le système d'aimant utilisé). Les cellules marquées par un anticorps migreront vers l'aimant.
13. Vider le surnageant conformément à la procédure de votre laboratoire tout en prenant soin de conserver les billes avec les cellules fixées qui ont migré vers l'aimant.
14. Sortir l'échantillon du champ magnétique.
15. Ajouter un volume de RPMI égal au volume initial de sang total et de tampon dilué de T-Cell *Select* aux cellules restantes. Mélanger en vue de resuspendre l'échantillon.
16. Exposer l'échantillon à un aimant adapté pendant 10 minutes au minimum (Remarque : la durée d'incubation doit être validée en relation avec le système d'aimant utilisé). Les cellules marquées par un anticorps migreront vers l'aimant.
17. Vider le surnageant conformément à la procédure de votre laboratoire tout en prenant soin de conserver les billes avec les cellules fixées qui ont migré vers l'aimant.
18. Sortir l'échantillon du champ magnétique.
19. Bien resuspendre l'échantillon dans le milieu AIM-V en vue d'obtenir une concentration cellulaire finale d'au moins $2,5 \times 10^6$ /mL. L'échantillon est prêt pour le comptage des cellules et une utilisation dans le cadre de procédures ELISPOT (Remarque : l'échantillon peut être exposé à l'aimant pour des cycles supplémentaires avant l'ajout du milieu AIM-V si un plus grand nombre de cycles a été validé avec le système d'aimant utilisé).

Remarque : Les laboratoires individuels doivent valider leurs procédures de prélèvement et de séparation des cellules immunitaires mononuclées afin d'obtenir un nombre suffisant de cellules. Les laboratoires doivent valider leurs systèmes de séparation magnétique ainsi que tout autre équipement utilisé dans la procédure d'isolement des cellules. Il est recommandé ce qui suit :

- Les cellules d'un patient peuvent être regroupées, si nécessaire, afin d'obtenir un nombre de cellules suffisant à partir de plusieurs tubes de sang qui ont été prélevés et traités dans les 54 heures.
- En général, chez les adultes et les enfants de plus de 2 ans immunocompétents, il est possible d'obtenir un nombre suffisant de cellules pour réaliser les procédures d'immunoessai à médiation cellulaire à partir d'échantillons de sang total de 3,5 mL.

Pour les enfants jusqu'à l'âge de 2 ans, un tube pédiatrique de 2 mL doit être utilisé.

Limites

1. Bien que les kits T-Cell *Select* soient indiqués pour 144 tests, le nombre de tests pouvant être réalisés par chaque laboratoire avec chaque kit pourra varier. De nombreuses variables affectent la quantité de réactifs qui sera nécessaire et donc le nombre de tests pouvant être réalisés avec chaque kit. Ces variables peuvent comprendre l'équipement de laboratoire utilisé, le volume de sang de départ et le nombre de cycles d'exposition des échantillons à l'aimant.
2. Le kit T-Cell *Select* est conçu pour isoler des cellules mononuclées à partir de sang total dans le cadre de procédures d'immunoessai à médiation cellulaire. Il ne s'agit pas d'un test diagnostique en soi. Les résultats des tests doivent être interprétés en même temps que les résultats du test de diagnostic utilisé.

Contrôle de la qualité

- Les tests effectués en interne n'ont montré aucune différence significative dans les populations des cellules immunitaires mononuclées obtenues à partir de sang total lorsque l'utilisation du kit T-Cell *Select* a été comparée aux méthodes de séparation par gradient de densité.
- Dans le cadre des activités de contrôle de la qualité d'un laboratoire donné, les méthodes de séparation magnétique et de comptage des cellules doivent être conçues et validées afin d'assurer l'obtention d'un nombre suffisant de cellules immunitaires mononuclées pour réaliser le test de diagnostic concerné.
- Des contrôles positifs et négatifs appropriés doivent être inclus afin de s'assurer que les cellules mononuclées préparées par séparation magnétique fournissent la performance attendue pour le test de diagnostic.

Caractéristiques de performance

Des études cliniques ont été réalisées afin de démontrer la performance du test T-SPOT.TB à l'aide de cellules isolées avec le kit T-Cell *Select* à partir de sang conservé pendant un maximum de 54 heures suivant la ponction veineuse réalisée à la fois dans des zones faiblement et fortement endémiques. Des fractions d'échantillons ont été traitées à l'aide du kit T-Cell *Select* (délai de conservation de 0 à 54 heures) et d'une centrifugation en gradient de densité (délai de conservation de 0 à 32 heures).

La concordance entre le test T-SPOT.TB, le kit T-Cell *Select* et la méthode de séparation par gradient de densité pour les données issues des études cliniques était de 97 % (644/664) [IC à 95 % 95,4-98,2 %].

Parmi le faible nombre de résultats discordants entre les méthodes, il a été observé que certains résultats négatifs obtenus avec des échantillons dont les cellules avaient été isolées par la méthode conventionnelle de centrifugation de densité et qui étaient positifs lorsque les kits T-Cell *Select* étaient utilisés, avaient ensuite été déterminés comme étant positifs à la TB par confirmation microbiologique (n=6). Cela signifie que la méthode d'isolement des cellules par sélection positive peut apporter une meilleure sensibilité au test T-SPOT.TB.

Signalement d'incidents graves

Si un incident grave lié au dispositif est survenu, il doit être signalé au service client. Dans les États membres de l'Union européenne, les incidents graves doivent également être signalés à l'autorité compétente (le service gouvernemental responsable des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*) de votre pays. Veuillez consulter le site Internet de votre gouvernement pour savoir comment contacter votre autorité compétente. Un « incident grave » désigne tout incident ayant entraîné directement ou indirectement, susceptible d'avoir entraîné ou susceptible d'entraîner :

- le décès d'un patient, d'un utilisateur ou d'une autre personne ;
- une grave dégradation, temporaire ou permanente, de l'état de santé d'un patient, d'un utilisateur ou d'une autre personne ;
- une menace grave pour la santé publique.












Coordonnées du service client

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Royaume-Uni
Tél. : +44 (0) 1235 442780
Courriel : info@oxfordimmunotec.com

Pour les téléchargements de support technique et d'autres informations techniques, veuillez consulter notre site Internet :

www.oxfordimmunotec.com

Glossaire des symboles

	À utiliser avant/Date de péremption (Année-Mois-Jour)
	Numéro de lot
	Référence catalogue
	Attention, voir le mode d'emploi
	Fabricant
	Quantité suffisante pour « n » tests
	Dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>
	Limites de température/Conserver à une température comprise entre
	Consulter le mode d'emploi
	Conserver à l'abri du soleil
	Représentant agréé de l'UE

T-SPOT, T-Cell *Xtend* et le logo d'Oxford Immunotec sont des marques déposées d'Oxford Immunotec Ltd.

T-Cell *Select* est une marque déposée d'Oxford Immunotec Ltd.

AIM-V et GIBCO sont des marques déposées de Life Technologies Corporation.

L'utilisation du kit T-Cell *Xtend* et T-Cell *Select* est protégée par les brevets suivants : EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2023, Oxford Immunotec. Tous droits réservés.

■ Fabricant :
Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, Royaume-Uni
+44 (0)1235 442780
www.oxfordimmunotec.com

EC REP Représentant agréé de l'UE
Oxford Immunotec (Irlande)
Unit 3d North Point House,
North Point Business Park,
New Mallow Road,
Cork, T23 AT2P
République d'Irlande

Numéro de révision	Date de publication	Modifications
1 - 5	Détails disponibles sur demande auprès d'Oxford Immunotec.	
6	Juillet 2022	Changement d'adresse du fabricant. Ajout d'un historique de révision. Ajout d'instructions pour signaler les incidents graves, détails de l'importateur de l'UE, Représentant agréé de l'UE
7	Octobre 2022	Effacement des détails de l'importateur de l'UE
8	décembre 2023	Suppression de l'expression 'une société PerkinElmer' du logo



Oxford Immunotec Ltd.
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon, Oxfordshire,
OX14 4SE, Royaume-Uni.
Tél. : +44 (0)1235 442780
Fax : +44 (0)1235 442781



www.oxfordimmunotec.com