

T-Cell Xtend[®]



Pour utilisation en vue de la préparation et de l'isolement de lymphocytes purifiés directement à partir de sang total

NOTICE

Pour test diagnostique *in vitro*

Cette notice concerne l'utilisation du produit suivant :

T-Cell Xtend (Numéro de catalogue : TTK.610)

Utilisation visée

Le réactif T-Cell *Xtend* est conçu pour être utilisé en vue de la préparation de lymphocytes T purifiés à partir de sang total. Le réactif permettra aux laboratoires d'isoler les lymphocytes à partir de sang total pendant une période allant jusqu'à 32 heures après la prise de sang, en vue de réaliser un test ELISPOT commercial.

Introduction

En règle générale, les techniques ELISPOT ont été validées pour le traitement d'échantillons sanguins dans les 8 heures suivant une prise de sang. Cette durée maximale de manipulation des échantillons sanguins peut avoir un impact sur le personnel et les procédures du laboratoire en réduisant le flux de travail dédié à la conduite du test. L'utilisation du réactif T-Cell *Xtend* dans le processus ELISPOT conduit à une plus grande flexibilité pour le laboratoire. Les échantillons sanguins peuvent être expédiés ou conservés toute une nuit sans que cela ait un impact sur la fonction ou la performance lymphocytaire.

Principe de la méthode

L'utilisation du réactif T-Cell *Xtend* en tant qu'aide à la séparation de lymphocytes à partir de sang total améliore la logistique du processus d'essai par ELISPOT avec des échantillons conservés. Les lymphocytes T isolés à partir de sang total conservé toute une nuit, semblent montrer des réponses diminuées à la stimulation antigénique lors des tests ELISPOT, mais cela est essentiellement dû à une contamination des populations cellulaires dans la couche de cellules mononuclées du sang périphérique (PBMC). Le réactif T-Cell *Xtend* contient des anticorps monoclonaux bispécifiques qui sont dirigés contre les marqueurs de la surface cellulaire sur des leucocytes sélectionnés et les érythrocytes. Le réactif T-Cell *Xtend* établit des liaisons croisées entre les leucocytes sélectionnés et les érythrocytes, ce qui augmente la densité des cellules sélectionnées. Lors de l'application d'un gradient de densité durant la séparation selon la méthode FICOLL, les leucocytes sélectionnés restent séparés dans la couche d'érythrocytes, loin de la couche PBMC. Les cellules non sélectionnées, y compris les cellules T et les cellules présentatrices d'antigène, se limitent à la couche PBMC. Les études ont démontré que la fonctionnalité des lymphocytes T, préparés à l'aide du réactif T-Cell *Xtend* après conservation des échantillons sanguins toute une nuit, est comparable à celle obtenue à partir de sang frais.

Avertissements et précautions d'emploi

1. Pour test diagnostique *in vitro* seulement.
2. Pour utilisation professionnelle seulement. Les techniciens doivent être formés à l'utilisation de cette procédure.
3. Les échantillons sanguins doivent être considérés comme potentiellement dangereux. Des précautions doivent être prises lors de la manipulation de produits d'origine humaine.
4. La manipulation lors de l'utilisation, de la conservation et de l'élimination des échantillons de sang total et des composants des tests doit être effectuée en conformité avec les procédures définies dans les directives ou règlements nationaux relatifs à la biosécurité.
5. Tout écart par rapport aux procédures recommandées vis-à-vis des techniques de pipetage, de lavage, les temps d'incubation ou les températures, peut influencer les résultats des tests.
6. Ne pas prélever le sang dans des tubes CPT™ (*Cell Preparation Tubes*, Becton Dickinson) ou des tubes de prélèvement sanguin contenant de l'anticoagulant EDTA, car ceux-ci sont incompatibles avec le réactif T-Cell *Xtend*.
7. Ne pas réfrigérer ni congeler les échantillons de sang total. Conserver et acheminer les échantillons sanguins au laboratoire à une température comprise entre 10 et 25 °C.
8. Ajouter le réactif T-Cell *Xtend* au sang total avant de traiter les échantillons.
9. Ne pas diluer ni ajouter d'autres composants directement au réactif T-Cell *Xtend*.
10. N'utiliser que des contenants jetables pour le recueil de l'échantillon de sang veineux.
11. Ne pas mélanger différents lots dans l'échantillon d'un seul patient.
12. Ne pas utiliser après la date de péremption.
13. Ne pas utiliser un échantillon de sang total conservé pendant plus de 32 heures.
14. Recourir aux techniques aseptiques 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. T-Cell *Xtend* 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 :

Trois (3) flacons de 2 mL d'anticorps monoclonaux T-Cell *Xtend* (TT.610).

Conservation et stabilité

Conserver les flacons non ouverts de réactif T-Cell *Xtend* entre 2 et 8 °C jusqu'à l'expiration de la date de péremption indiquée sur la boîte. Conserver les flacons ouverts et refermés entre 2 et 8 °C et utiliser dans les 12 semaines qui suivent l'ouverture à moins que cette période n'excède la date de péremption indiquée sur la boîte.

Équipement et matériel requis mais non fournis

1. Tubes de recueil de sang héparinisés.
2. FICOLL ou autres matériels de séparation des PBMC, c'.-à-d. tubes Accuspin™ et Leucosep.
3. Une centrifugeuse d'au moins 1800 g et capable de maintenir les échantillons à température ambiante (18 à 25 °C), pour l'isolement des cellules mononuclées en cas d'utilisation d'une méthode de centrifugation par gradient de densité pour l'extraction de ces cellules.
4. Hotte microbiologique de niveau 2 (BL2) (recommandée).
5. Pipettes et embouts de pipette stériles.
6. Kit ELISPOT.

Procédure

Remarque : Les étapes suivantes doivent être réalisées selon les principes des Bonnes Pratiques de Laboratoire:

1. Effectuer le prélèvement de sang total dans des tubes avec héparinate de lithium et conserver pendant 32 heures maximum entre 10 °C et 25 °C.
2. Immédiatement avant utilisation lors d'un test ELISPOT commercial, ajouter 25 µL de solution du réactif T-Cell *Xtend* par mL de sang total en retirant le capuchon du tube de prélèvement et en ajoutant à la pipette le volume recommandé.
3. Remettre le capuchon et retourner doucement le tube de prélèvement 8 à 10 fois.
4. Incuber le sang total avec le réactif T-Cell *Xtend* pendant 20 ± 5 minutes à température ambiante (18 à 25 °C).
5. Isoler la fraction de PBMC au moyen d'une centrifugation par gradient de densité FICOLL ou une autre méthode de séparation des PBMC.
6. Préparer les PBMC pour le test ELISPOT selon les directives d'utilisation du fabricant du kit ELISPOT.

Remarque : Les laboratoires individuels devront valider leurs procédures de recueil et de séparation des PBMC afin d'obtenir des quantités suffisantes. Il est recommandé que :

- Les échantillons de sang soient recueillis sur des tubes de prélèvement avec héparinate de lithium ; les PBMC étant extraits par la suite au moyen de techniques de séparation telles que le gradient de densité FICOLL. D'autres méthodes de purification de la fraction de PBMC peuvent être utilisées le cas échéant, ex. tubes Accuspin ou Leucosep pré-remplis de FICOLL.
- Les cellules d'un patient peuvent être regroupées si nécessaire, afin d'obtenir suffisamment de cellules de plusieurs tubes de sang qui ont été recueillis et traités en même temps.

Typiquement, chez un patient immunocompétent, il est possible d'obtenir suffisamment de PBMC à partir des échantillons de sang veineux pour conduire le test selon les directives suivantes :

- Adultes et enfants de plus de 2 ans : un tube de 6 mL avec héparinate de lithium
- Enfant de 2 ans et moins : un tube pédiatrique de 2 mL

Préparation du réactif

Le réactif T-Cell *Xtend* est prêt à l'emploi. Aucune préparation du réactif n'est nécessaire.

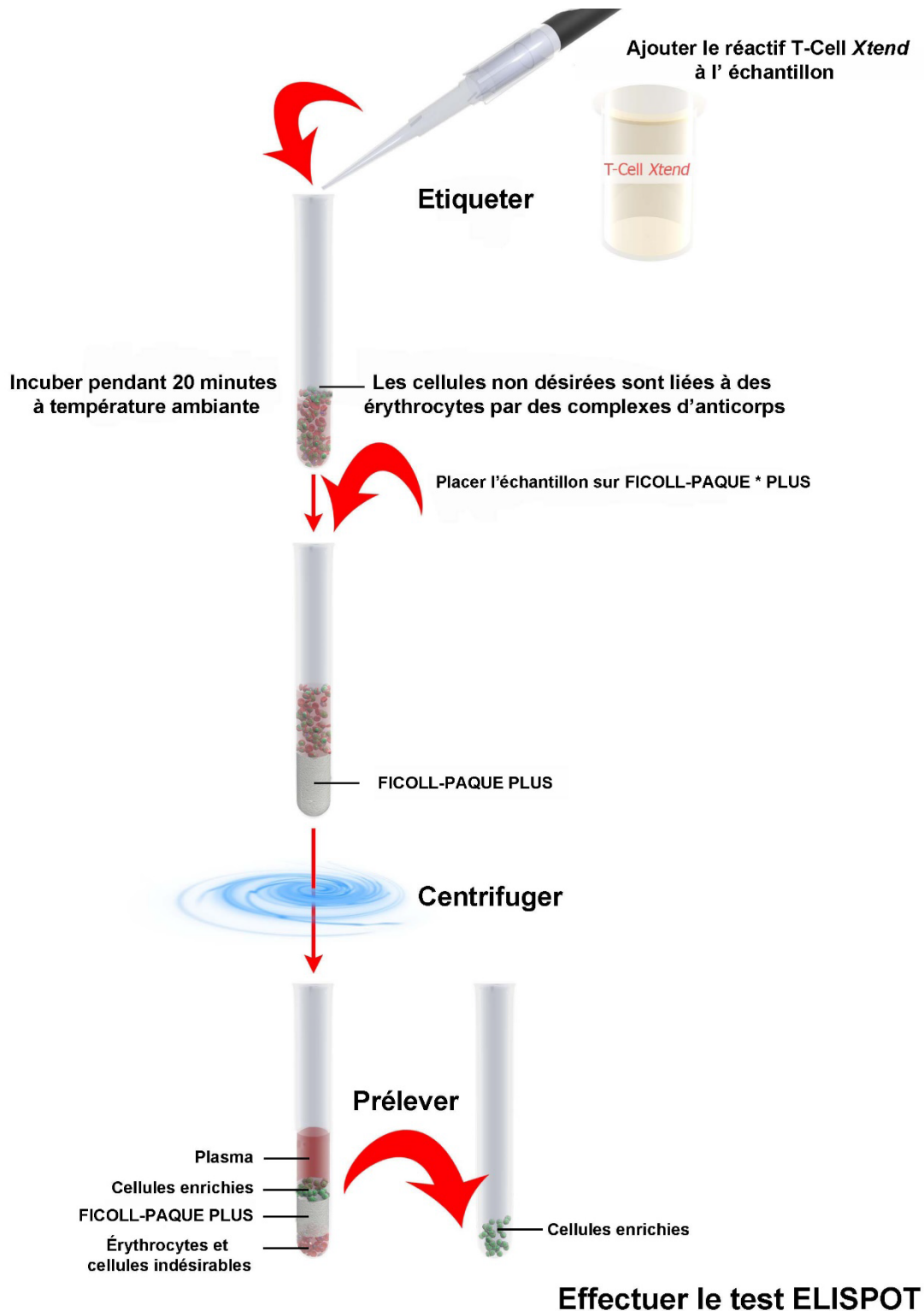


Figure 1 : Diagramme montrant comment le réactif T-Cell *Xtend* doit être intégré à un protocole ELISPOT en vue d'être utilisé avec du sang total conservé ou acheminé sur une période maximale de 32 heures après la prise de sang.

Limites

1. Le réactif T-Cell *Xtend* est un outil de diagnostic. Les résultats du test doivent être interprétés en relation avec les résultats du test diagnostique utilisé.

Contrôle de la qualité

Les tests internes sur le réactif T-Cell *Xtend* n'ont montré aucune diminution significative du rendement des PBMC ou des populations de lymphocytes T, lors de la comparaison d'échantillons de sang total conservés moins de 8 heures après la prise de sang avec des échantillons de sang total conservés pendant 32 heures maximum et traités par le réactif T-Cell *Xtend*. En tant que partie intégrante des activités de contrôle de la qualité d'un laboratoire individuel, les méthodes de numération cellulaire doivent être conçues et validées afin de s'assurer que suffisamment de PBMC ont été obtenues pour le système de test approprié. De plus, les activités de contrôle de la qualité doivent faire usage de contrôles positifs et négatifs conçus pour garantir la performance attendue des lymphocytes T dans le système de test approprié.

Caractéristique de la performance

On a réalisé des études cliniques avec et sans addition du réactif T-Cell *Xtend* avant de séparer les cellules pour le traitement des échantillons de sang total au moyen d'un test ELISPOT (test T-SPOT[®].TB), après les avoir conservés durant un maximum de 32 heures après la ponction veineuse.

La correspondance générale pour les données des études cliniques (3 centres) entre le test (T-SPOT[®].TB avec et sans le réactif T-Cell *Xtend* était de 96,6 % (340/352) [IC à 95 % de 94,1 à 98,2 %].

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











Guide de résolution de problèmes lors de la préparation de PBMC en vue d'effectuer un test ELISPOT

Problème	Cause potentielle	Solution possible
Faible rendement cellulaire	Leucopénie	Ajouter un tube de prélèvement sanguin supplémentaire
	Recueil sanguin inadéquat	Ne pas utiliser des tubes de préparation cellulaire (CPT, Becton Dickinson) ou des tubes de prélèvement sanguin contenant de l'anticoagulant EDTA
	Le tube de prélèvement n'est pas à la température ambiante (18 – 25 °C)	S'assurer que le tube de prélèvement de sang s'est équilibré à température ambiante avant de prélever l'échantillon
	La conservation du sang ne s'est pas faite entre 10 et 25 °C	S'assurer que l'acheminement du sang s'effectue à une température comprise entre 10 et 25 °C
Contamination des érythrocytes	Le tube de prélèvement n'est pas à la température ambiante (18 – 25 °C)	S'assurer que le tube de prélèvement de sang s'est équilibré à température ambiante avant de prélever l'échantillon
	Centrifugation inadéquate	Augmenter le temps de centrifugation à 30 minutes Vérifier que la centrifugeuse est réfrigérée Vérifier que le frein de la centrifugeuse est fonctionnel et s'assurer que ces étapes sont effectuées selon les instructions du fabricant pour la séparation sur FICOLL
Aucune couche de cellules mononuclées définie ou distincte	La centrifugeuse n'est pas correctement calibrée	Effectuer une calibration de la centrifugation
	La vitesse de la centrifugeuse est trop faible	Augmentation de la vitesse de la centrifugeuse à 1500 - 1800 g
	Le temps de centrifugation est trop court	Augmenter le temps de centrifugation à 30 minutes
	Échantillon hyperlipémiant	Recueillir un échantillon sanguin à jeun
Résultats invalides	Des résultats invalides peuvent être causés par un certain nombre de problèmes de manipulation des échantillons	Veillez vous référer aux rubriques ci-dessus

Références bibliographiques

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

Glossaire des symboles

	Utiliser avant/ Date de péremption (Année - Mois – Jour)
	Numéro de lot
	Numéro de catalogue
	Attention, voir les instructions
	Fabricant
	Suffisant pour « N » tests
	Dispositif diagnostique <i>in vitro</i>
	Limites de température / Conserver à une température
	Consulter le mode d'emploi
	Représentant agréé de l'UE

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

CPT et Vacutainer sont des marques déposées de Becton, Dickinson and Company.


Ficoll et Ficoll-Paque sont des marques déposées de Cytiva, une filiale de Global Life Sciences Solutions USA LLC.

Accuspin est une marque déposée de Sigma-Aldrich.

L'utilisation du réactif T-Cell *Xtend* est protégée par les brevets et les brevets en instance 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
www.oxfordimmunotec.com

 Représentant agréé de l'Union Européenne
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 - 6		Détails disponibles sur demande auprès d'Oxford Immunotec.
7	Juillet 2022	Changement d'adresse du fabricant. Ajout d'un historique de révision. Ajout d'instructions pour signaler les incidents graves, et de détails pour EC REP et Importateur de l'Union européenne
8	Octobre 2022	Supprimer les détails de l'Importateur de l'Union européenne
9	Novembre 2023	Suppression de l'expression « une société PerkinElmer » du logo



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