

T-Cell Xtend[®]

 **Oxford**
Immunotec

Un ausilio per la preparazione e l'isolamento di linfociti
purificati direttamente dal sangue intero

FOGLIO ILLUSTRATIVO

Per uso diagnostico *In Vitro*

Il presente foglio illustrativo descrive l'uso di
T-Cell Xtend (numero di catalogo: TTK.610)

Uso previsto

Il reagente T-Cell *Xtend* serve per ottenere cellule T purificate dal sangue intero. Il reagente permette ai laboratori di isolare i linfociti, per il saggio commerciale ELISPOT, dal sangue intero fino a 32 ore dopo il prelievo venoso.

Introduzione

In generale, le tecniche ELISPOT sono state validate per processare i campioni ematici entro 8 ore dal prelievo venoso. Tale lasso di tempo per processare i campioni può avere un impatto negativo sul personale e sulle procedure di laboratorio in quanto comporta una limitazione al flusso di lavoro per l'esecuzione del saggio. L'introduzione del reagente T-Cell *Xtend* nella procedura ELISPOT comporta un aumento della flessibilità per il laboratorio. I campioni ematici possono essere spediti e/o conservati durante la notte senza alcun effetto sulla funzione o sulle prestazioni delle cellule T.

Principio della procedura

L'uso del reagente T-Cell *Xtend* come ausilio per la separazione dei linfociti dal sangue intero migliora le procedure dei saggi ELISPOT su campioni conservati. Le cellule T isolate da sangue intero conservato durante la notte, sembrano mostrare una riduzione delle risposte alla stimolazione con antigeni nei saggi ELISPOT, ma questo è principalmente dovuto alla presenza di popolazioni di cellule contaminanti nello strato delle cellule mononucleate di sangue periferico (PBMC). Il reagente T-Cell *Xtend* contiene anticorpi monoclonali bispecifici diretti contro i marcatori di superficie cellulare su leucociti ed eritrociti selezionati. Il reagente T-Cell *Xtend* forma dei *cross-link* tra leucociti selezionati ed eritrociti, determinando un aumento della densità delle cellule selezionate. Applicando un gradiente di densità durante l'estrazione con FICOLL, i leucociti separati rimangono isolati all'interno dello strato degli eritrociti lontano dallo strato delle PBMC. Cellule non selezionate, comprese le cellule T e le cellule che presentano antigeni nello strato delle PBMC, durante l'estrazione su Ficoll™ sono contenute nello strato delle PBMC. Studi hanno dimostrato che la funzionalità delle cellule T, preparate con il reagente T-Cell *Xtend* dopo che il sangue è stato conservato durante la notte, è paragonabile a quella ottenuta con sangue fresco.

Avvertenze e precauzioni

1. Soltanto per uso diagnostico *In vitro*.
2. Soltanto per uso professionale; gli operatori devono essere addestrati a questa procedura.
3. Tutti i campioni ematici devono essere considerati potenzialmente infetti. E' necessario prendere precauzioni durante la manipolazione di prodotti di origine umana.
4. La manipolazione dei campioni ematici e dei componenti del test, il loro uso, conservazione e smaltimento devono essere eseguiti in conformità alle procedure stipulate 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, ed ai tempi e/o alle temperature di incubazione può influenzare i risultati del test.
6. Non raccogliere il sangue nelle Provette per la Preparazione Cellulare (Cell Preparation Tubes CPT™, Becton Dickinson), o nelle provette per la raccolta di sangue con EDTA, in quanto queste sono incompatibili con il reagente T-Cell *Xtend*.
7. Non refrigerare o congelare i campioni di sangue intero. Conservare e trasportare i campioni di sangue al laboratorio mantenendoli ad una temperatura compresa tra 10 e 25 °C.
8. Aggiungere il reagente T-Cell *Xtend* al sangue intero prima di processare il campione.
9. Non diluire o aggiungere altri componenti direttamente al reagente T-Cell *Xtend*.
10. Usare soltanto contenitori monouso per la raccolta di campioni di sangue venoso.
11. Non mescolare lotti differenti nel campione di un singolo paziente.
12. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
13. Non utilizzare per campioni di sangue conservati oltre 32 ore.
14. Utilizzare una tecnica asettica durante l'uso del 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. T-Cell *Xtend* contiene sostanze di origine animale potenzialmente infettive. Nelle normali condizioni di utilizzo, queste sostanze non devono entrare in contatto con l'operatore.

Materiali in dotazione

Ciascuna confezione contiene:

Tre (3) fiale da 2 mL di anticorpi monoclonali T-Cell *Xtend* (TT.610).

Conservazione e stabilità del prodotto

Conservare i flaconcini del reagente T-Cell *Xtend* integri a 2-8 °C, fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Dopo l'apertura, conservare i flaconcini, risigillati, a 2-8 °C e riutilizzarli entro 12 settimane dalla prima apertura, a meno che tale data non ecceda la data di scadenza riportata sulla confezione.

Attrezzatura e materiali necessari ma non forniti

1. Provette con eparina per la raccolta di sangue.
2. FICOLL o altro materiale per la separazione delle PBMC (ad esempio provette Accuspin™ e Leucosep).
3. Centrifuga per l'isolamento delle PBMC, capace di almeno 1800 RCF (g) e di mantenere i campioni a temperatura ambiente (18-25 °C) nel caso di metodi di centrifugazione in gradiente di densità per la separazione delle PBMC.
4. Cabina di sicurezza biologica di classe II (BL 2) (raccomandata)
5. Pipette e punte sterili.
6. Kit ELISPOT.

Procedura

Nota: Eseguire i seguenti passaggi utilizzando i Principi di Buona Pratica di Laboratorio:

1. Raccogliere il sangue intero in provette eparinizzate e conservare per un tempo fino a 32 ore a 10-25 °C.
2. Immediatamente prima dell'uso con saggio commerciale ELISPOT, aggiungere 25 µL di reagente T-Cell *Xtend* per mL di sangue intero, rimuovendo il tappo della provetta di raccolta e pipettandovi dentro il volume di soluzione raccomandato.
3. Riapplicare il tappo e capovolgere delicatamente la provetta da 8 a 10 volte.
4. Incubare il sangue intero con aggiunta di reagente T-Cell *Xtend* per 20 ± 5 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Isolare la frazione delle PBMC mediante centrifugazione in gradiente di densità su FICOLL o un altro metodo per la separazione delle PBMC.
6. Preparare le PBMC per il saggio ELISPOT seguendo le istruzioni d'uso fornite dal fabbricante del kit ELISPOT.

Nota: I singoli laboratori devono validare le proprie procedure di raccolta e separazione delle PBMC tali da ottenere quantità sufficienti. Si raccomanda:

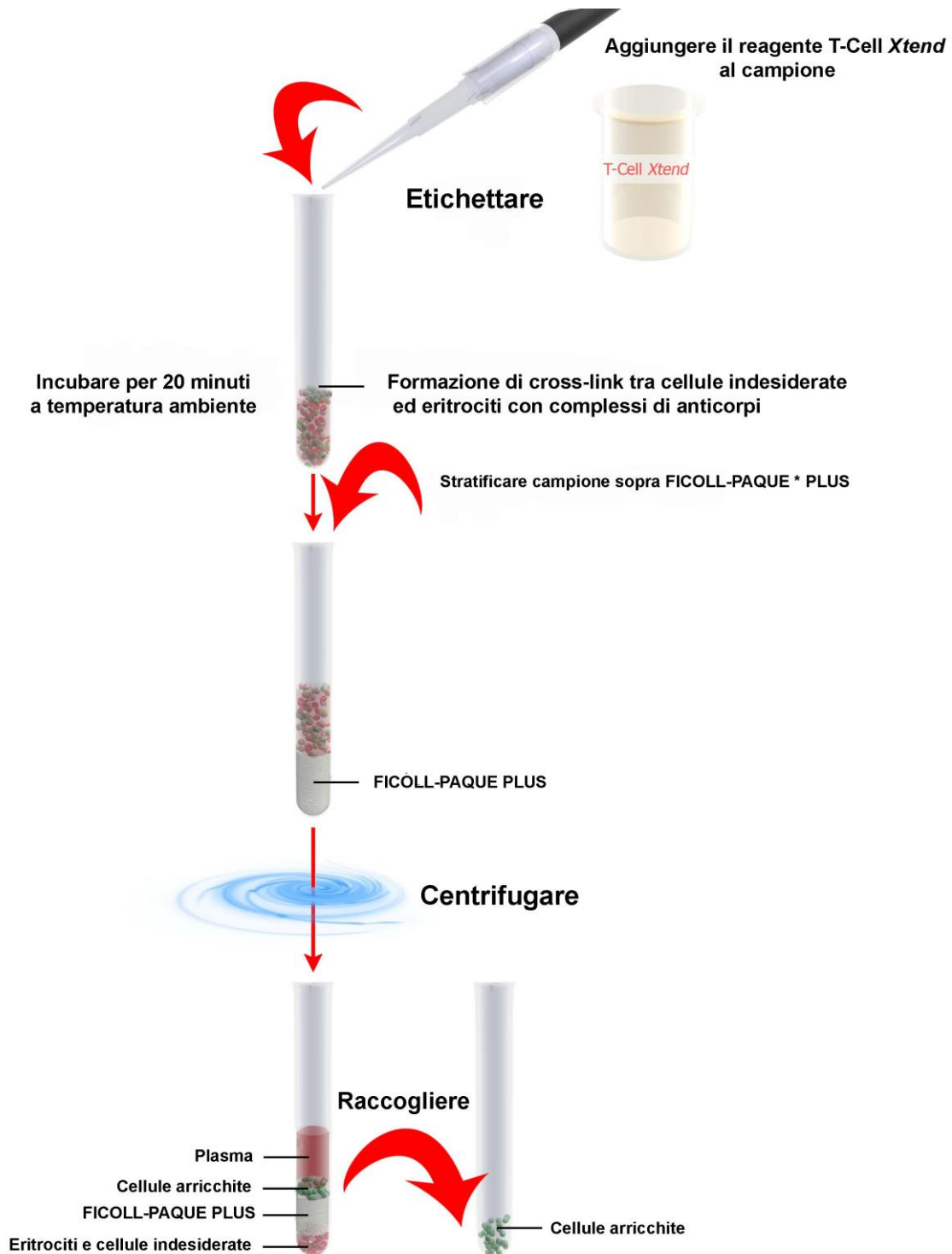
- Di raccogliere i campioni di sangue in provette per la raccolta di sangue con litio-eparina e separando successivamente le PBMC mediante tecniche di separazione standard quali il gradiente di densità su FICOLL. Se preferibile, è possibile utilizzare altri metodi per la purificazione della frazione dei PBMC (ad esempio provette Accuspin o Leucosep preimpilate con FICOLL).
- Le cellule di un paziente possono essere raccolte insieme, se necessario, per ottenere un numero sufficiente di cellule da più provette di sangue raccolte e processate contemporaneamente.

Normalmente, per un paziente immunocompetente, è possibile ottenere una quantità sufficiente di PBMC proveniente da campioni di sangue venoso per eseguire il test secondo le direttive seguenti:

- Adulti e bambini di età superiore a 2 anni: una provetta con litio-eparina da 6 mL
- Bambini fino a 2 anni: una provetta pediatrica da 2 mL

Preparazione del reagente

Il reagente T-Cell *Xtend* è fornito pronto all'uso. Non è richiesta alcuna preparazione del reagente.



Procedure al saggio ELISPOT

Figura 1: Schema che illustra come inserire il reagente T-Cell *Xtend* in un protocollo ELISPOT per l'uso con sangue intero conservato o inviato per un tempo fino a 32 ore dopo la venipuntura.

Limitazioni

1. Il reagente T-Cell *Xtend* è un ausilio diagnostico. I risultati dei test devono essere interpretati unitamente ai risultati dello specifico test diagnostico utilizzato.

Controllo di qualità

I test condotti *in-house* sul reagente T-Cell *Xtend* non hanno dimostrato alcuna diminuzione significativa nei risultati delle PBMC o delle popolazioni dei linfociti T dopo aver messo a confronto campioni di sangue intero conservati per meno di 8 ore dal prelievo del campione di sangue intero con campioni conservati per un tempo fino a 32 ore e trattati con il reagente T-Cell *Xtend*. Quale parte dell'attività di controllo di qualità del singolo laboratorio, i metodi per la conta delle cellule devono essere disegnati e validati in modo da garantire l'acquisizione di un numero sufficiente di PBMC per il sistema del test specifico utilizzato. Inoltre, le attività di controllo di qualità devono prevedere l'uso di controlli sia positivo, sia negativo, allo scopo di garantire la performance attesa delle cellule T nel sistema di test in oggetto.

Caratteristiche della performance

Sono stati condotti studi clinici con e senza il reagente T-Cell *Xtend* aggiunto prima della separazione cellulare per l'analisi di campioni di sangue intero con un saggio ELISPOT (saggio T-SPOT®.TB) conservati fino a 32 dopo la venipuntura.

L'accordo totale dei dati dello studio clinico (3 siti) tra i saggi T-SPOT.TB con e senza il reagente T-Cell *Xtend* è stato pari al 96,6 % (340/352) [95 % CI 94,1-98,2 %].

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 gravi 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. Per "incidente serio" 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;
- serie minaccia per la salute pubblica.

Informazioni di contatto del Servizio clienti

Oxford Immunotec Ltd
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon
Oxfordshire, OX14 4SE, UK
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












Guida ai problemi nella preparazione delle PBMC per ELISPOT

Problema	Possibile causa	Possibile soluzione
Basso numero di cellule	<p>Leucopenia</p> <p>Raccolta del sangue non corretta</p> <p>La provetta per la raccolta del sangue non è a temperatura ambiente (18-25 °C)</p> <p>La conservazione del sangue non è a 10-25 °C</p> <p>La conservazione del sangue ha oltrepassato il limite di tempo raccomandato</p>	<p>Aggiungere un'ulteriore provetta per la raccolta del sangue</p> <p>Non utilizzare Provette per la Preparazione Cellulare (Cell Preparation Tubes, CPT, Becton Dickinson), o provette per la raccolta di sangue con anticoagulante EDTA</p> <p>Accertarsi che la provetta per la raccolta del sangue raggiunga la temperatura ambiente prima della raccolta del campione</p> <p>Assicurarsi che la spedizione avvenga a 10-25 °C</p> <p>Raccogliere un altro campione ematico e ripetere il test</p>
Contaminazione con eritrociti	<p>La provetta per la raccolta del sangue non è a temperatura ambiente (18-25 °C)</p> <p>La centrifugazione non è corretta</p>	<p>Accertarsi che la provetta per la raccolta del sangue raggiunga la temperatura ambiente prima della raccolta del campione</p> <p>Aumentare il tempo di centrifugazione fino a 30 minuti</p> <p>Controllare che la centrifuga sia refrigerata</p> <p>Controllare che la centrifuga sia dotata di fermo ed assicurarsi che le operazioni siano eseguite secondo le istruzioni del fabbricante per la separazione su FICOLL</p>
Assenza di uno strato definito o distinto di cellule mononucleari	<p>La centrifuga non è calibrata correttamente</p> <p>Velocità di centrifugazione troppo bassa</p> <p>Tempo di centrifugazione troppo breve</p> <p>Campione di soggetto iperlipemico</p>	<p>Calibrare la centrifuga</p> <p>Aumentare la velocità della centrifuga per ottenere 500-1800 RCF</p> <p>Aumentare il tempo di centrifugazione fino a 30 minuti</p> <p>Raccogliere un campione di sangue a digiuno</p>
Risultati non validi	I risultati non validi possono essere provocati da una serie di problemi legati alla manipolazione dei campioni	Fare riferimento a quanto sopra

Riferimenti bibliografici

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

Glossario dei simboli

	Utilizzare entro (Anno-Mese-Giorno)
	Numero di lotto
	Codice
	Attenzione, leggere le istruzioni per l'uso
	Fabbricante
	Sufficiente per “n” test
	Test per Diagnostica <i>In vitro</i>
	Limite di temperatura/Conservare entro
	Fare riferimento alle istruzioni per l'uso
	Rappresentante UE autorizzato
	Rappresentante autorizzato svizzero

T-SPOT, T-Cell *Xtend* e il logo Oxford Immunotec sono marchi depositati di Oxford Immunotec Limited.

CPT e Vacutainer sono marchi depositati di Becton, Dickinson & Company.

Ficoll e Ficoll-Paque sono marchi depositati di Cytiva, un'affiliata di Global Life Sciences Solutions USA LLC.

Accuspin è un marchio depositato di Sigma-Aldrich.

L'utilizzo del reagente T-Cell *Xtend* è protetto dai seguenti brevetti depositati o in attesa di registrazione:

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

© 2024, 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

Wallac Oy
Mustionkatu 6,
FI-20750 Turku,
Finlandia

CH REP Rappresentante autorizzato del CH

Qarad Suisse S.A.,
World Trade Center,
Avenue Gratta-Paille 2,
1018 Lausanne, Svizzera,
UID CHE-250.073.976

Numero revisione	Data di pubblicazione	Modifiche
1 -6	Informazioni disponibili su richiesta da Oxford Immunotec.	
7	Giugno 2022	Modifica dell'indirizzo del fabbricante. Aggiunta della cronologia delle modifiche. Aggiunta di istruzioni per la segnalazione di incidenti seri, e dettagli del rappresentante autorizzato per l'Unione europea e dell'importatore UE.
8	Ottobre 2022	Cancellazione dei dettagli dell'importatore UE.
9	Novembre 2023	Rimozione di "una società PerkinElmer" dal logo
10	Settembre 2024	Modifica del rappresentante autorizzato europeo e aggiunta di rappresentante autorizzato svizzero



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