

Para utilizar na preparação de células imunes mononucleares purificadas diretamente a partir de sangue total

## FOLHETO INFORMATIVO

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

Este folheto informativo cobre a utilização de:  
T-Cell *Select* (Número de catálogo: TSK.910)

## Utilização prevista

O kit T-Cell *Select*™ destina-se a ser utilizado no isolamento de células imunes mononucleares a partir de sangue total, utilizando a seleção positiva através de um sistema de separação celular baseado em esferas magnéticas, para utilização em imunoenaios de mediação celular.

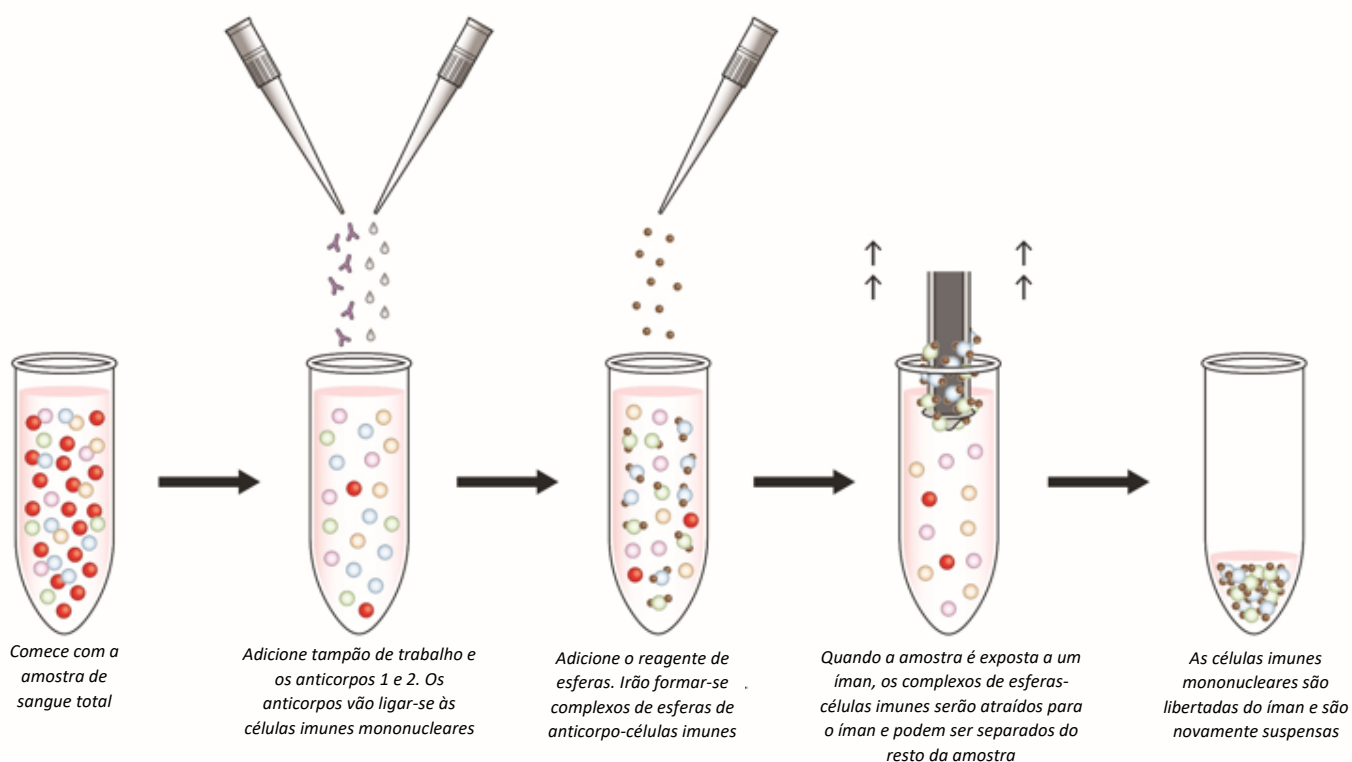
## Introdução

Para os imunoenaios de mediação celular como, por exemplo, os ensaios ELISPOT (enzyme-linked immunospot), as células mononucleares do sangue periférico (CMSP) são normalmente isoladas utilizando métodos de centrifugação por gradiente de densidade. O kit T-Cell *Select* permite que as CMSP sejam isoladas utilizando a seleção positiva das células imunes mononucleares com um sistema de separação celular baseado em esferas magnéticas. A utilização de sistemas de separação magnética permite a automatização do processo de isolamento celular, reduzindo significativamente o tempo de intervenção necessário para a preparação das amostras.

As células isoladas a partir de sangue conservado durante, no máximo, 54 horas utilizando o kit T-Cell *Select* produzem resultados equivalentes às isoladas utilizando a centrifugação por gradiente de densidade e o reagente T-Cell *Xtend*®, conforme avaliado no teste T-SPOT®.TB.

## Princípio do método

A utilização do kit T-Cell *Select* melhora a logística e fluxo de trabalho da preparação de CMSP para utilização em ensaios ELISPOT. O kit contém um conjunto exclusivo de reagentes composto por uma solução tampão, anticorpos e esferas superparamagnéticas. O tampão T-Cell *Select* diluído é adicionado à amostra de sangue total para facilitar a purificação celular e reduzir a contaminação com eritrócitos e, em seguida, são adicionados os anticorpos que se ligam às células imunes necessárias na amostra. A adição de esferas superparamagnéticas resulta na formação de complexos com os anticorpos ligados às células imunes. As propriedades magnéticas das esferas são utilizadas, com a ajuda de um sistema de separação magnética validado e adequado, para isolar as CMSP da amostra para utilização subsequente no ensaio ELISPOT. Os laboratórios devem validar o método de seleção positiva no seu próprio equipamento específico, incluindo os volumes de sangue apropriados e o número de ciclos que as amostras são expostas ao íman.



## Advertências e precauções de segurança

1. Apenas para utilização em diagnóstico *in vitro*.
2. Apenas para uso profissional; os operadores devem receber formação sobre este procedimento.
3. As amostras de sangue devem ser consideradas potencialmente perigosas. Devem ser tomadas precauções ao lidar com material de origem humana.
4. O manuseamento de amostras de sangue total e de componentes do ensaio durante a utilização, conservação e eliminação deve ser efetuado em conformidade com os procedimentos definidos nas orientações ou nos regulamentos nacionais de segurança relativos a materiais com risco biológico apropriados.
5. Quaisquer desvios em relação aos procedimentos recomendados para pipetagem, técnicas de lavagem, tempos e/ou temperaturas de incubação poderá influenciar os resultados dos testes.
6. Não proceda à colheita de sangue em tubos de colheita de sangue com EDTA.
7. Não coloque amostras de sangue total no frigorífico ou no congelador. As amostras de sangue devem ser conservadas e transportadas para o laboratório a temperaturas entre 18 °C e 25 °C.
8. Não dilua nem adicione outros componentes diretamente aos reagentes T-Cell *Select* para além do que está descrito nas instruções neste folheto informativo.
9. Valide qualquer equipamento de laboratório através do protocolo do laboratório antes de utilizar o kit T-Cell *Select*.
10. Para a colheita de amostras de sangue venoso, utilize apenas recipientes de utilização única.
11. Não misture reagentes diferentes de lotes diferentes numa mesma amostra de doente.
12. Não utilize após o fim do prazo de validade.
13. Não utilize com uma amostra de sangue total que tenha sido conservada durante mais de 54 horas.
14. Empregue técnicas assépticas quando utilizar este produto.
15. Não utilize se os frascos parecerem estar danificados ou já abertos.
16. Não utilize se o fluido dentro dos frascos parecer estar descolorido ou se tiver precipitado.
17. Os anticorpos 1 e 2 contêm substâncias de origem animal que são potencialmente infecciosas. Em condições normais de utilização, estas substâncias não entram em contacto com o utilizador.

## Materiais fornecidos

Cada caixa contém:

Kit do teste 144\*

Reagente	Quantidade
Tampão concentrado (BU.190)	1 x 50 mL
Anticorpo 1 (AC.190)	3 x 2 mL
Anticorpo 2 (AH.190)	3 x 2 mL
Reagente de esferas (BR.190)	1 x 10 mL

\*Consulte na secção *Limitações* uma nota importante sobre a quantidade de testes por kit

## Conservação e estabilidade

Conserve os kits de T-Cell *Select* por abrir a temperaturas entre 2 °C a 8 °C até ao prazo de validade indicado na caixa. Conserve os frascos abertos e novamente selados dos reagentes T-Cell *Select* a temperaturas entre 2 °C e 8 °C e utilize até 4 semanas após a abertura, exceto se este período ultrapassar o prazo de validade indicado na caixa. Não misture componentes entre lotes de kits diferentes.

## **Equipamento e materiais necessários, mas não fornecidos**

1. Tubos de colheita de sangue; recomenda-se a utilização de tubos de lítio ou heparina de sódio ou tubos de citrato de sódio.
2. Água destilada ou desionizada.
3. Meio de cultura de células isento de soro estéril como, por exemplo, meio Gibco® AIM-V®.
4. Meio RPMI 1640.
5. Equipamento adequado de purificação de partículas magnéticas que deve ser validado pelo laboratório para utilização, como por exemplo:
  - Um instrumento de cabeça de haste magnética submersa, compatível para utilização com uma microplaca de poços profundos
  - Um ímã de bloco com cavidade de tubo de ensaio
  - Uma base magnética de placa, compatível para utilização com uma microplaca de poços profundos
6. Tubos ou recipientes compatíveis com o sistema de separação magnética do laboratório.
7. Pipetas e pontas de pipetas estéreis.
8. Cronómetro.
9. Câmara com nível de biossegurança 2 (BL 2) (recomendada).

## Procedimento

Os laboratórios individuais devem validar os seus procedimentos de recolha e separação de células imunitárias mononucleares para obter números suficientes. Este procedimento demonstra o método de isolamento T-Cell *Select* para utilização com equipamento validado pelo laboratório. O volume de sangue por amostra deve ser validado com o equipamento utilizado. Os passos 11, 12 e 16 (e quaisquer ciclos adicionais de exposição magnética) podem ser otimizados para o sistema magnético utilizado dentro dos prazos previstos. A validação deve assegurar que quantidades adequadas de PBMC são isoladas para utilização no ensaio ELISPOT necessário.

Nota:

Os passos a seguir devem ser realizados utilizando os princípios das Boas Práticas de Laboratório.

Certifique-se de que todos os reagentes se encontram à temperatura ambiente antes de utilizar.

1. Misture completamente a amostra de sangue.
2. Aliquote o sangue num recipiente compatível com o sistema de separação magnética do laboratório. Normalmente utiliza-se 3,5-5 mL de sangue por amostra para obter um número suficiente de células para utilizar em procedimentos ELISPOT.
3. Dilua o tampão concentrado T-Cell *Select* em água destilada ou desionizada numa proporção de 2:3, tampão concentrado:água destilada ou desionizada.
4. Adicione tampão T-Cell *Select* diluído a sangue total numa proporção de 1:7, tampão:sangue.
5. Adicione 10 µL de anticorpo 1 por mL do volume combinado de sangue total e tampão.
6. Adicione 10 µL de anticorpo 2 por mL do volume combinado de sangue total e tampão.
7. Misture completamente a amostra.
8. Incube a amostra durante 15 minutos à temperatura ambiente.
9. Misture completamente o reagente de esferas imediatamente antes da utilização. Adicione 15 µl de reagente de esferas por mL do volume combinado de sangue total e tampão.
10. Misture a amostra com cuidado.
11. Incube a amostra durante 15 minutos à temperatura ambiente, misturando, no mínimo, a cada 5 minutos.
12. Exponha a amostra a um íman adequado durante, no mínimo, 10 minutos (nota: o tempo de incubação precisa de ser validado em conjunto com o sistema magnético utilizado). As células marcadas com anticorpo irão migrar na direção do íman.
13. Elimine o sobrenadante de acordo com o procedimento do seu laboratório, ao mesmo tempo que assegura a retenção das esferas com as células ligadas que migraram para o íman.
14. Remova a amostra do campo magnético.
15. Adicione um volume de RPMI igual ao volume original de sangue total e tampão T Cell *Select* diluído às células restantes. Misture até ressuspender a amostra.
16. Exponha a amostra a um íman adequado durante, no mínimo, 10 minutos (nota: o tempo de incubação precisa de ser validado em conjunto com o sistema magnético utilizado). As células marcadas com anticorpo irão migrar na direção do íman.
17. Elimine o sobrenadante de acordo com o procedimento do seu laboratório, ao mesmo tempo que assegura a retenção das esferas com as células ligadas que migraram para o íman.
18. Remova a amostra do campo magnético.
19. Volte a suspender completamente a amostra em meio AIM-V para obter uma concentração celular final de, pelo menos,  $2,5 \times 10^6$ /ml. A amostra está pronta para a contagem de células e utilização em procedimentos ELISPOT (nota: a amostra pode ser exposta ao íman para ciclos adicionais antes da adição de meio AIM-V, se existirem mais ciclos validados com o sistema magnético utilizado).

Nota: Cada laboratório deve validar os seus procedimentos para colheita e separação de células imunes mononucleares, para obter números suficientes de células. Os laboratórios devem validar os respetivos sistemas de separação magnética e qualquer outro equipamento utilizado no procedimento de isolamento celular. Recomenda-se que:

- Se tal for necessário para se obter um número suficiente de células, as células de um doente podem ser reunidas a partir de múltiplos tubos de sangue que tenham sido colhidos e processados dentro do período de 54 horas.
- Normalmente, para adultos imunocompetentes e crianças com mais de 2 anos, é possível obter uma quantidade suficiente de células para executar os procedimentos de imunoensaio de mediação celular a partir de 3,5 mL de amostras de sangue total.

Para crianças até aos 2 anos, deve ser utilizado um tubo pediátrico de 2 mL.

## Limitações

1. Embora os kits T-Cell *Select* estejam indicados para 144 testes, o número de testes que cada laboratório consegue realizar com cada kit irá diferir. Existem diversas variáveis que afetam o número de reagentes que serão necessários e, conseqüentemente, o número de testes suportados por cada kit. Tais variáveis incluem o equipamento de laboratório utilizado, o volume inicial de sangue e o número de ciclos nos quais as amostras são expostas ao íman.
2. O kit T-Cell *Select* destina-se a ser utilizado no isolamento de células mononucleares a partir de sangue total, para utilização em procedimentos de imunoensaio de mediação celular. Não se trata de um teste de diagnóstico por si só. Os resultados do teste devem ser interpretados em conjunto com os resultados do ensaio de diagnóstico que estiver a ser utilizado.

## Controlo de qualidade

- Os testes realizados a nível interno não demonstraram qualquer diferença significativa nas populações de células imunes mononucleares obtidas a partir de sangue total com a utilização do kit T-Cell *Select* em comparação com os métodos de separação por gradiente de densidade.
- Como parte da atividade de controlo de qualidade de qualquer laboratório, os métodos de contagem e separação magnética de células devem ser concebidos e validados para garantir que é possível obter um número suficiente de células imunes mononucleares para o ensaio de diagnóstico em questão.
- Devem ser incluídos controlos positivos e negativos relevantes para garantir que as células mononucleares preparadas pela separação magnética apresentam o desempenho esperado no ensaio de diagnóstico.

## Características de desempenho

Foram realizados estudos clínicos para demonstrar o desempenho do teste T-SPOT.TB utilizando células isoladas com o kit T-Cell *Select* a partir de sangue conservado por um período de, no máximo, 54 horas após venopunção, num cenário de elevado e baixo nível endémico. As amostras divididas foram processadas utilizando o kit T-Cell *Select* (0-54 horas de tempo de conservação) e centrifugação por gradiente de densidade (0-32 horas de tempo de conservação).

A concordância geral para os dados do estudo clínico entre o ensaio T-SPOT.TB com o kit T-Cell *Select* e o método de separação por gradiente de densidade foi de 97 % (644/664) [IC de 95 % 95,4-98,2 %].

Entre o número reduzido de resultados discordantes entre os métodos, observou-se que alguns resultados negativos de amostras com células isoladas pelo método de centrifugação por densidade padrão que foram positivas com a utilização de kits T-Cell *Select*, foram subseqüentemente determinados como TB positivos microbiologicamente confirmados (n=6). Isto indica que o método de isolamento de células de seleção positiva pode conferir uma sensibilidade melhorada ao ensaio T-SPOT.TB.

## Comunicação de incidentes graves

Se tiver ocorrido um incidente grave em relação a este dispositivo, este deverá ser comunicado ao Serviço de Atendimento ao Cliente. Nos Estados-Membros da União Europeia, os incidentes graves devem também ser comunicados à autoridade competente (o departamento governamental responsável pelos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*) no seu país. Consulte o website do seu governo para obter detalhes sobre como contactar a sua autoridade competente. Um "incidente grave" significa qualquer incidente que direta ou indiretamente tenha conduzido, possa ter conduzido ou possa conduzir:












- à morte de um paciente, utilizador ou outra pessoa;
- à deterioração grave temporária ou permanente do estado de saúde de um paciente, utilizador ou outra pessoa;
- a uma grave ameaça para a saúde pública.

## Informações de contacto do Serviço de Atendimento ao Cliente

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

Para downloads de apoio ao produto e mais informações técnicas, visite o nosso website:  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

## Glossário de símbolos

	Utilizar até/Prazo de validade (Ano-Mês-Dia)
	Número de lote
	Número de catálogo
	Atenção, consultar as instruções de utilização
	Fabricante
	Suficiente para “n” testes
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limitação de temperatura/Conservar entre
	Consultar as instruções de utilização
	Manter afastado da luz do sol
	Representante Autorizado da UE

T-SPOT, T-Cell *Xtend* e o logótipo Oxford Immunotec são marcas comerciais registadas da Oxford Immunotec Ltd. T-Cell *Select* é uma marca comercial da Oxford Immunotec Ltd. AIM-V e GIBCO são marcas comerciais registadas da Life Technologies Corporation.

A utilização do kit T-Cell *Xtend* e T-Cell *Select* está protegida pelas seguintes patentes: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205

© 2022, Oxford Immunotec. Todos os direitos reservados.

### Fabricante:

Oxford Immunotec Ltd  
143 Park Drive East, Milton Park, Abingdon  
Oxfordshire, OX14 4SE, Reino Unido  
[www.oxfordimmunotec.com](http://www.oxfordimmunotec.com)

### Representante Autorizado da União Europeia:

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

Número da Revisão	Data de Emissão	Modificações
1 - 5	Detalhes disponíveis mediante pedido sobre a Oxford Immunotec.	
6	Junho 2022	Mudança de endereço do fabricante. Adição do histórico de revisões. Adição de instruções para comunicar incidentes graves, dos dados do Representante Autorizado da União Europeia e do Importador da União Europeia.
7	Outubro 2022	Exclusão dos dados do Importador da UE.



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](http://www.oxfordimmunotec.com)