

T-Cell Xtend[®]



Para utilizar na preparação e isolamento de linfócitos purificados
directamente a partir de sangue total

FOLHETO INFORMATIVO

Para Utilizar no Diagnóstico *In Vitro*

Este folheto informativo cobre a utilização de:

T-Cell Xtend (Número de catálogo: TTK.610)

Utilização prevista

O reagente T-Cell *Xtend* destina-se a ser utilizado na preparação de linfócitos T purificados a partir de sangue total. O reagente permitirá aos laboratórios isolar linfócitos a partir de sangue total, até 32 horas após a punção venosa, para realização do ensaio comercial ELISPOT.

Introdução

De um modo geral, as técnicas ELISPOT foram validadas para processamento de amostras de sangue até 8 horas após a punção venosa. Esta limitação temporal para o manuseamento do sangue poderá ter impacto nas equipas e nos procedimentos laboratoriais, por restringir o fluxo de trabalho para efectuar o ensaio. A incorporação do reagente T-Cell *Xtend* no processo ELISPOT permite uma flexibilidade acrescida para o laboratório. As amostras de sangue podem ser enviadas e/ou armazenadas de um dia para o outro, sem qualquer impacto nas funções ou no desempenho dos linfócitos T.

Princípio do Método

O uso do reagente T-Cell *Xtend*, na ajuda da separação de linfócitos a partir do sangue total, melhora a logística do processamento de amostras armazenadas em ensaios ELISPOT. Os linfócitos T isolados a partir de sangue total armazenado de um dia para o outro parecem apresentar uma diminuição da resposta à estimulação com antigénios em ensaios ELISPOT, mas isto deve-se principalmente à contaminação com populações de células na camada de linfócitos mononucleares do sangue periférico (PBMC - *Peripheral Blood Mononuclear Cell*). O reagente T-Cell *Xtend* contém anticorpos monoclonais bi-específicos que são dirigidos contra os marcadores de superfície celular nos leucócitos e eritrócitos seleccionados. O reagente T-Cell *Xtend* forma ligações entre os leucócitos seleccionados e os eritrócitos, aumentando assim a densidade das células seleccionadas. Quando se aplica um gradiente de densidade durante a extracção com FICOLL*, os leucócitos seleccionados permanecem separados no seio da camada de eritrócitos afastados da camada de PBMC. As células não seleccionadas, incluindo os linfócitos T e as células apresentadoras de antigénios, estão contidas na camada de PBMC. Estudos demonstraram que a funcionalidade dos linfócitos T, preparados com o reagente T-Cell *Xtend* após armazenamento do sangue de um dia para o outro, é comparável à obtida a partir de sangue fresco.

Advertências e precauções

1. Para uso exclusivo no 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. É necessário adoptar precauções no manuseamento de materiais de origem humana.
4. O manuseamento de amostras de sangue e de componentes do ensaio, durante a sua utilização, armazenamento e eliminação, deve respeitar os procedimentos definidos pelas directrizes ou regulamentações nacionais pertinentes sobre segurança biológica.
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 efectue colheitas de sangue em tubos para preparação de células (CPT™, Becton Dickinson) ou em tubos de colheita de sangue com EDTA, pois estes são incompatíveis com o reagente T-Cell *Xtend*.
7. Não coloque amostras de sangue total no frigorífico ou no congelador. As amostras de sangue devem ser armazenadas e transportadas para o laboratório a temperaturas entre 10 e 25 °C.
8. Adicione o reagente T-Cell *Xtend* ao sangue total antes do processamento das amostras.
9. Não dilua nem adicione outros componentes directamente ao reagente T-Cell *Xtend*.
10. Para a colheita de amostras de sangue venoso, utilize apenas recipientes de utilização única.
11. Não misture 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 armazenada durante mais de 32 horas.
14. A utilização deste produto requer técnicas de assepsia.
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. T-Cell *Xtend* contém 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:

Três (3) frascos de 2 mL de anticorpos monoclonais T-Cell *Xtend* (TT.610).

Armazenamento e estabilidade

Armazene os frascos de reagente T-Cell *Xtend* por abrir a temperaturas entre 2 e 8 °C, até à data de validade indicada na caixa. Conserve os frascos abertos e novamente selados a temperaturas entre 2 e 8 °C e utilize até 12 semanas após a abertura, excepto se este período ultrapassar o prazo de validade indicado na caixa.

Equipamento e materiais necessários, mas não fornecidos

1. Tubos de colheita de sangue heparinizado.
2. FICOLL ou materiais alternativos para separação de PBMC, ou seja: tubos Accuspin™ e Leucosep.
3. Uma centrífuga para isolamento de PBMC com força centrífuga mínima de 1800 rcf (g) e que permita manter as amostras à temperatura ambiente (18-25 °C), se forem utilizados métodos de centrifugação por gradiente de densidade para separar os PBMC.
4. Cabine com nível 2 de segurança biológica (NSB 2) (recomendado).
5. Pipetas e pontas estéreis.
6. Conjunto ELISPOT.

Procedimento

Nota: Os passos seguintes devem ser realizados aplicando os princípios das Boas Práticas de Laboratório:

1. Efectue a colheita de sangue total em tubos heparina-lítio de colheita de sangue e armazene por um período máximo de 32 horas, a uma temperatura entre 10 e 25 °C.
2. Imediatamente antes de usar num ensaio comercial ELISPOT, adicione 25 µL do reagente T-Cell *Xtend* por mL de sangue total, retirando a tampa do tubo de colheita e pipetando o volume recomendado.
3. Volte a colocar a tampa e inverta suavemente o tubo de colheita de sangue 8 a 10 vezes.
4. Incube o sangue total com o reagente T-Cell *Xtend* durante 20 ± 5 minutos, à temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Isole a fracção de PBMC utilizando a centrifugação em gradiente de densidade em FICOLL ou um método alternativo de isolamento de PBMC.
6. Prepare os PBMC para o ensaio ELISPOT, seguindo as instruções de utilização recomendadas pelo fabricante do conjunto ELISPOT.

Nota: Cada laboratório deve validar os seus procedimentos para colheita e separação de PBMC, para obter números suficientes. Recomenda-se que:

- As amostras de sangue sejam colhidas em tubos heparina-lítio de colheita de sangue e que os PBMC sejam posteriormente separados utilizando técnicas de separação padrão, tais como gradiente de densidade em FICOLL. Podem ser utilizados métodos alternativos para purificar a fracção de PBMC, tais como tubos Accuspin ou Leucosep previamente cheios com FICOLL.
- 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 simultaneamente.

Geralmente, para um doente imunocompetente, é possível obter um número suficiente de PBMC para efectuar o ensaio a partir de amostras de sangue venoso, de acordo com as seguintes directrizes:

- Adultos e crianças com idade superior a 2 anos: um tubo de heparina-lítio de 6 mL.
- Crianças com idade até 2 anos: um tubo pediátrico de 2 mL.

Preparação do reagente

O reagente T-Cell *Xtend* é fornecido pronto a utilizar. Não é necessário preparar o reagente.

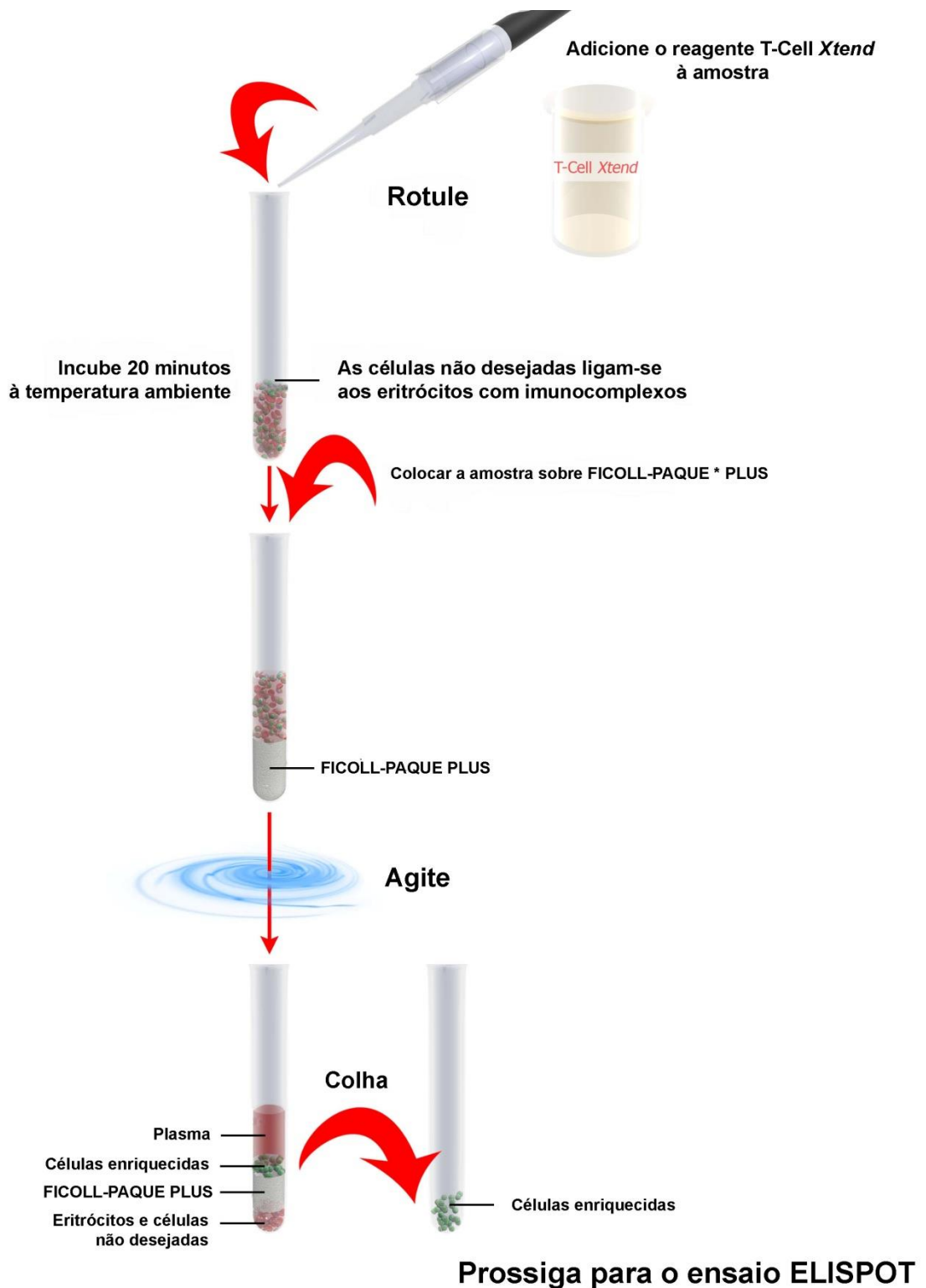


Figura 1: O diagrama mostra como integrar o reagente T-Cell *Xtend* num protocolo ELISPOT para usar com sangue total armazenado/expedido até 32 horas após a punção venosa.

Limitações

1. O reagente T-Cell *Xtend* é um auxiliar de diagnóstico. Os resultados do teste devem ser interpretados em conjunto com os resultados do teste de diagnóstico que estiver a ser utilizado.

Controlo de qualidade

Os testes do reagente T-Cell *Xtend* realizados pelo fabricante não mostraram decréscimo significativo dos números de PBMC ou das populações de linfócitos T, quando se compararam amostras de sangue total armazenadas durante menos de 8 horas após a punção venosa com amostras de sangue total armazenadas por períodos até 32 horas tratadas com o reagente T-Cell *Xtend*. Como parte da actividade de controlo de qualidade de qualquer laboratório, os métodos de contagem de células devem ser concebidos e validados para garantir que se obteve um número suficiente de PBMC para o sistema de teste em questão. Além disso, as actividades de controlo de qualidade devem incluir controlos positivos e negativos criados para garantir o desempenho esperado dos linfócitos T no sistema de teste em questão.

Características de desempenho

Foram realizados estudos clínicos com e sem o reagente T-Cell *Xtend* adicionado antes da separação celular para o processamento de amostras de sangue total com um ensaio ELISPOT (ensaio T-SPOT®.TB) armazenado até 32 horas após a punção venosa.

A concordância geral para os dados do estudo clínico (3 locais) entre o ensaio T-SPOT.TB com e sem o reagente T-Cell *Xtend* foi de 96,6 % (340/352) [95 % IC 94,1-98,2 %].

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

Para downloads de apoio ao produto e mais informações técnicas, visite o nosso website:
www.oxfordimmunotec.com











Guia para a identificação e resolução de problemas na preparação de PBMC para ELISPOT

Problema	Potencial causa	Possível solução
Baixo número de células	<p>Leucopenia</p> <p>Colheita de sangue incorrecta</p> <p>O tubo de colheita de sangue não está à temperatura ambiente (18-25 °C)</p> <p>A temperatura de armazenamento do sangue não está entre 10 e 25 °C</p> <p>O tempo recomendado de armazenamento do sangue foi excedido</p>	<p>Adicione um tubo de colheita de sangue adicional</p> <p>Não utilize tubos de preparação celular (CPT, Becton Dickinson) ou tubos de colheita de sangue contendo o anticoagulante EDTA</p> <p>Certifique-se de que o tubo de colheita de sangue encontra-se à temperatura ambiente antes da colheita de amostras</p> <p>Certifique-se de que o transporte do sangue é feito a 10-25 °C</p> <p>Recolha outra amostra de sangue e repita o teste</p>
Contaminação com eritrócitos	<p>O tubo de colheita de sangue não está à temperatura ambiente do local (18-25 °C)</p> <p>Centrifugação incorrecta</p>	<p>Certifique-se de que o tubo de colheita de sangue encontra-se à temperatura ambiente antes da colheita de amostras</p> <p>Aumente o tempo de centrifugação para 30 minutos</p> <p>Verifique se a centrífuga é refrigerada</p> <p>Verifique se a centrífuga possui um travão de serviço e procure garantir que estes passos são realizados de acordo com as instruções do fabricante para a separação com FICOLL</p>
Camada de linfócitos mononucleares não definida ou distinta	<p>A centrífuga não está correctamente calibrada</p> <p>A velocidade da centrífuga é demasiado baixa</p> <p>O tempo de centrifugação foi demasiado curto</p> <p>Amostra hiperlipémica</p>	<p>Calibre a centrífuga</p> <p>Aumente a velocidade da centrífuga para produzir 1500-1800 rcf</p> <p>Aumente o tempo de centrifugação para 30 minutos</p> <p>Colha uma amostra de sangue em jejum</p>
Resultados não válidos	Os resultados não válidos podem ser causados por várias possibilidades de incorrecto manuseamento de amostras	Consulte as secções acima

Bibliografia

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

Glossário de símbolos

	Utilizar até/Prazo de validade (Ano-Mês-Dia)
	Número de lote
	Número de catálogo
	Atenção, consulte as instruções de utilização
	Fabricante
	Suficiente para “n” testes
	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limitação de temperatura/Armazenar entre
	Consulte as instruções de utilização
	Representante Autorizado da UE

T-SPOT, T-Cell *Xtend* e o logótipo Oxford Immunotec são marcas comerciais da Oxford Immunotec Limited.

CPT e Vacutainer são marcas comerciais da Becton, Dickinson and Company. Ficoll e Ficoll-Paque são marcas registadas da Cytiva, uma filial da Global Life Sciences Solutions USA LLC.

Accuspin é uma marca comercial da Sigma-Aldrich.

A utilização do reagente T-Cell *Xtend* está protegida pelas seguintes patentes ou patentes pendentes: EP2084508, US9090871, CN101529221, AU2007-303994, JP5992393, IN289117, CA2665205.

© 2024, Oxford Immunotec Limited. Todos os direitos reservados.

■ Fabricante:

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

 Representante Autorizado da União Europeia:

Wallac Oy
Mustionkatu 6,
FI-20750 Turku,
Finlândia

Número da revisão	Data de emissão	Alterações
1 - 6		Detalhes disponíveis mediante pedido sobre a Oxford Immunotec.
7	Junho 2022	Mudança de endereço do fabricante. Adição do histórico de revisões. Adição de instruções para comunicar incidentes graves, EC REP e importador para a União Europeia detalhes.
8	Outubro de 2022	Excluir detalhes do importador da União Europeia
9	Novembro 2023	Remoção de «uma empresa PerkinElmer» do logótipo
10	Setembro de 2024	Mudança de Representante Autorizado na 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