

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.

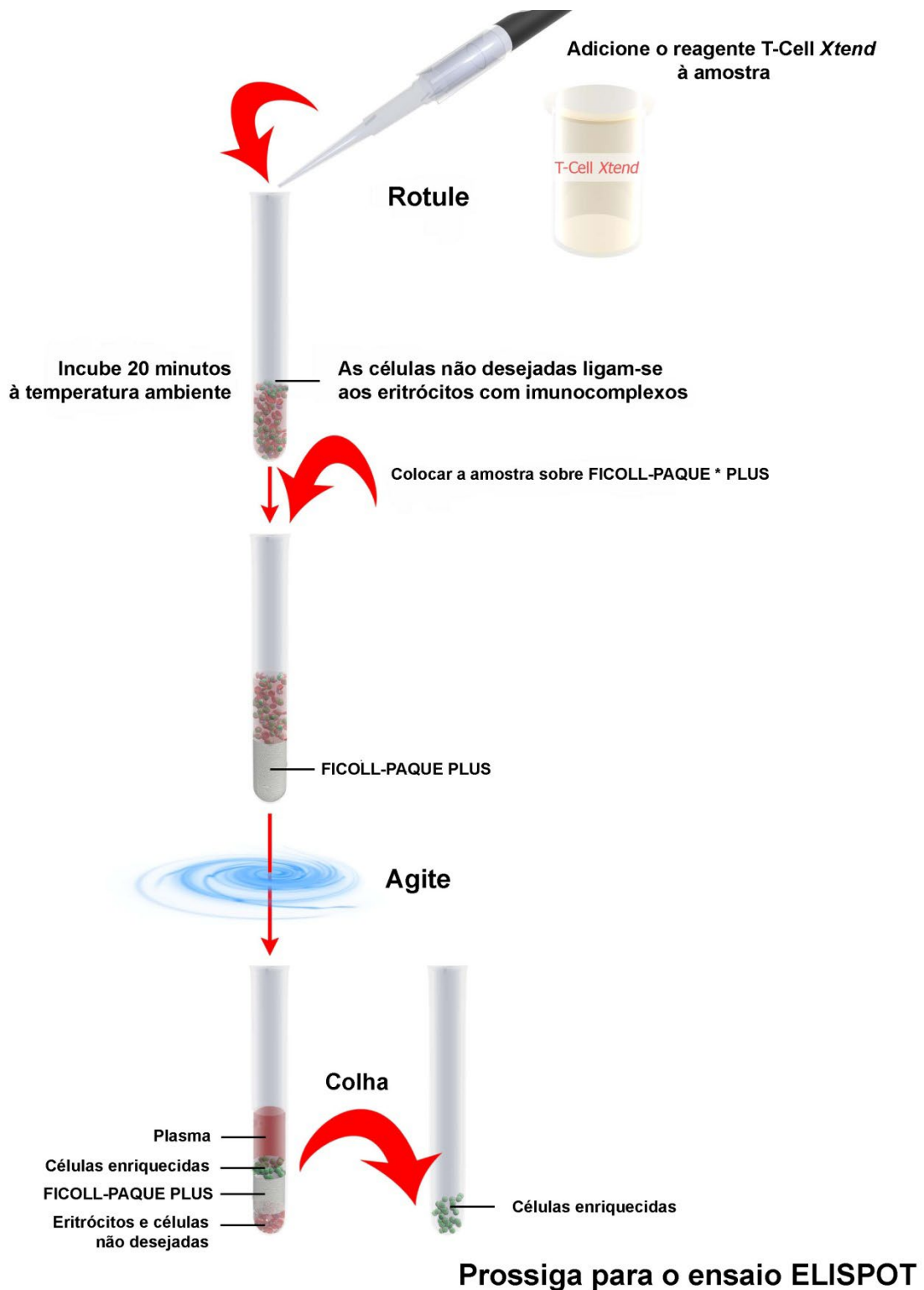


Figura 1: O diagrama mostra como integrar o reagente T-Cell *Xtend* num protocolo ELISPOT para usar com sangue total armazenado/expedido até 32 horas após a punção venosa.

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.

© 2022, 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

EC REP 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	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



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

