

Reagentes

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

Aplicação diagnóstica

O QUANTA Flash GBM é um imunoenensaio quimioluminescente (IEQ) para a detecção semiquantitativa de autoanticorpos para membrana basal antiglomerular (GBM) IgG em soro humano no instrumento BIO-FLASH[®]. O QUANTA Flash GBM é uma ajuda no diagnóstico de Síndrome de Goodpasture em conjunto com conclusões clínicas e outros testes laboratoriais.

Resumo e explicação do teste

Os anticorpos Anti-GBM são reconhecidos como sendo importantes na patogênese e no diagnóstico da glomerulonefrite de progressão rápida da Síndrome de Goodpasture (GPS).¹ As experiências de transferência passiva estabeleceram que os anticorpos anti-GBM podem reproduzir lesão no órgão alvo. A GPS não tratada pode causar um ataque fulminante com deterioração rápida da função renal, por vezes acompanhada de hemorragia pulmonar grave. A identificação precoce destes doentes acarreta implicações importantes em termos de gestão e prognóstico, uma vez que a imunoterapia e a plasmáfereze podem melhorar o resultado se instituídas numa fase suficientemente precoce.² Os ensaios para os anticorpos anti-GBM circulantes incluem ensaios de imonofluorescência indireta, RIA, ELISA e multiplex.^{3,4}

A membrana basal glomerular é constituída por muitas proteínas diferentes. Determinou-se que a maioria dos anticorpos de doentes com GPS reage com a região não colagénio (NC1) da cadeia de colagénio $\alpha 3(IV)$. Os ensaios ELISA utilizando antígeno $\alpha 3(IV)$ específico provaram ser altamente sensíveis e específicos para a GPS.^{1,4} Raramente se encontram anticorpos Anti-GBM em doentes saudáveis e os doentes tratados ou em remissão tendem a ter níveis mais baixos de anticorpo.

Os doentes com GPS podem apresentar características clínicas que podem sugerir determinados tipos de vasculite autoimune. Por este motivo, sugere-se a inclusão da detecção de autoanticorpos de anti-GBM, juntamente com a análise de anticorpos anti-neutrófilos citoplasmáticos (ANCA) como parte da análise serológica de doentes com suspeita de síndrome reno-pulmonar. Baseando-se na natureza de rápida progressão da GPS, a detecção precoce de anticorpos anti-GBM é da mais alta importância para o diagnóstico e o tratamento dos doentes.^{2,3}

Princípio do procedimento

O GMB purificado nativo está revestido por esferas de paramagnéticas, que estão guardadas no cartucho de reagente em condições que conservem o antígeno no seu estado reativo. Quando o cartucho do ensaio está pronto para ser utilizado pela primeira vez, é invertido todo o cartucho várias vezes até à completa mistura dos reagentes. O cartucho de reagente é então carregado no instrumento BIO-FLASH[®].

No instrumento dilui-se previamente uma amostra de soro do doente, utilizando lavagem do sistema adicionada a uma tina plástica descartável. Pequenas quantidades de soro diluído do doente, as esferas de GBM e o tampão de ensaio são todos combinados numa segunda tina e misturados. Incuba-se esta tina a 37 °C. As esferas são então magnetizadas e lavadas várias vezes. Adiciona-se então à tina o anticorpo IgG anti-humano conjugado de isoluminol e incuba-se a 37° C. Mais uma vez, as esferas são magnetizadas e lavadas repetidamente. O conjugado de isoluminol produz uma reação luminescente quando se adicionam os reagentes (“Ativadores”) à tina. A luz produzida a partir desta reação é medida como Unidades Relativas de Luz (URL) pelo sistema ótico BIO-FLASH. As URL são proporcionais à quantidade de conjugado de isoluminol ligado que, por sua vez, é proporcional à quantidade de autoanticorpos anti-GBM IgG ligados ao GBM nas esferas.

O ensaio QUANTA Flash GBM utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que é carregada no instrumento através do código de barras do cartucho de reagente. Baseando-se no resultado da execução de dois calibradores, cria-se uma Curva de Trabalho específica do instrumento, que se utiliza para calcular unidades quimioluminescentes (UQ) a partir da URL obtida para cada doente.

Reagentes

1. O cartucho de reagente QUANTA Flash GBM contém os reagentes seguintes para 50 determinações:
 - a. Esferas paramagnéticas revestidas GBM, num líquido contendo tampão, estabilizadores de proteína e conservante.
 - b. Tampão de ensaio – cor-de-rosa, contendo tampão salino Tris, Tween 20, estabilizadores proteicos e conservantes.
 - c. Marcador IgG – anticorpos IgG anti-humanos marcados isoluminol, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservante.

Advertências

1. O tampão de ensaio contém um químico (0,02% clorafenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. Este produto é venenoso e pode ser tóxico se for ingerido ou absorvido pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de chumbo ou cobre das canalizações formando azidas metálicas explosivas. Por esta razão, ao deitar fora os restos de reagentes é necessário deixar correr água em quantidade abundante para evitar a formação destas substâncias.
3. Usar equipamento de proteção pessoal apropriado para trabalhar com os reagentes.
4. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Observar todas as regulamentações ambientais nacionais e locais relativas à eliminação de resíduos.

Precauções

1. Este produto destina-se a utilização para diagnóstico *In Vitro*.
2. Este ensaio destina-se apenas a utilização com o instrumento BIO-FLASH.
3. Uma vez aberto, deve guardar-se este cartucho de reagente no carrossel do reagente do instrumento. Deve ter-se cuidado para evitar entornar os reagentes quando se coloca pela primeira vez o cartucho reagente no instrumento.
4. A contaminação química dos reagentes pode surgir devido a limpeza ou lavagem inadequada do instrumento. Resíduos de químicos laboratoriais comuns, como formalina, lixívia, etanol ou detergente, podem causar interferência no ensaio. Certifique-se de que segue o procedimento de limpeza do instrumento recomendado, conforme definido no manual do operador do BIO-FLASH.

Precauções particulares de conservação

1. Conserve os controlos por abrir a 2-8 °C. Não congele. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada, quando armazenados e manipulados conforme descrito no protocolo.
2. Devem guardar-se no instrumento os cartuchos de reagente abertos e permanecem estáveis durante um total de 42 dias, período após o qual devem eliminar-se. O software BIO-FLASH monitoriza as datas de validade dos cartuchos colocados, das curvas de calibração, bem como dos lotes do cartucho reagente.

Colheita, preparação e manuseamento de amostras

Este procedimento deve ser efetuado com uma amostra de soro. As amostras de soro com contaminação microbiana, que sofreram tratamento térmico ou que contêm partículas visíveis não devem ser utilizadas. Não deve utilizar-se soro muito hemolizado, lipémico ou itérico.

Após a colheita, o soro deve ser separado do coágulo. O documento H18-A4 da CLSI recomenda as seguintes condições de conservação para as amostras:

1. Não conservar as amostras à temperatura ambiente durante mais de 8 horas.
2. Se o teste não for concluído num prazo de 8 horas, guardar a amostra a 2-8 °C.
3. Se o teste não for concluído num prazo de 48 horas, ou se houver transporte da amostra, congelar a -20 °C ou a uma temperatura inferior. As amostras congeladas devem ser bem agitadas depois de descongelarem e antes de serem testadas.

Procedimento

Materiais fornecidos

- 1 Cartucho de Reagente QUANTA Flash GBM

Materiais adicionais necessários mas não fornecidos

Instrumento BIO-FLASH com computador

Lavagem do Sistema BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8205)

Ativadores BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8204)

Tinas BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8206)

Calibradores QUANTA Flash GBM (Número de Peça: 701141)

Controlos QUANTA Flash GBM (Número de Peça: 701142)

Utilizar o Analisador Quimioluminescente BIO-FLASH

1. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH. Para informações adicionais e resolução de problemas com este ensaio, contacte a assistência técnica da INOVA Diagnostics, Inc. no endereço ou através do número de telefone indicados no final das Instruções deste Folheto.
2. Para esvaziar o recipiente de resíduos sólidos, abra a gaveta dos resíduos. Remova o recipiente de resíduos sólidos e elimine as tinas usadas adequadamente. Substitua o recipiente de resíduos sólidos, feche a gaveta dos resíduos e clique em **Yes** na janela **Empty Waste Drawer**.
3. Para substituir os ativadores, clique no botão **Bulks Inventory F9** (superior direito).
 - a. No ecrã **Inventory – Bulks**, clique no botão **Triggers** à esquerda. Aparecerá uma janela nova intitulada **Add Triggers – Remove old bottles**.
 - b. Abra e retire a gaveta dos resíduos no instrumento BIO-FLASH. Elimine quaisquer tinas na gaveta de resíduos secos. Clique em **Yes** na janela **Empty Waste Drawer**. Retire as garrafas ativadoras dos respetivos suportes e clique no botão **Next**. Desaperte as tampas das garrafas antigas de ativadores e substitua por ativadores novos. Certifique-se de que as coloca uma de cada vez, com as tampas coloridas correspondentes (branca com branca e vermelha com vermelha).
 - c. Siga as instruções na janela nova **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle**. Quando o código de barras tiver sido aceite, coloque o Ativador 2 no suporte branco. Clique em **Next**.

- d. Siga as instruções na janela **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle**. Quando o código de barras tiver sido aceite, coloque o Ativador 1 no suporte vermelho. Clique em **Finish**. Substitua a gaveta dos resíduos e feche-a.
4. Para substituir o recipiente da Lavagem do Sistema, clique no botão **Bulks Inventory F9** (canto superior direito). No ecrã **Inventory – Bulks** clique no botão **Sys. Rinse**. Na janela **Add System Rinse – Remove bottles**, clique em **Next**. Siga as instruções na janela nova **Add System Rinse – Add bottle**. Quando o código de barras tiver sido aceite, se necessário, clique em **Finish**.
5. Para esvaziar o Recipiente de Resíduos de Fluido, a partir do ecrã **Inventory – Bulks**, clique no botão **Fluid Waste**. Retire e elimine os resíduos de fluido. Clique em **Seguinte**. Quando tiver substituído a garrafa vazia, clique em **Finish**.

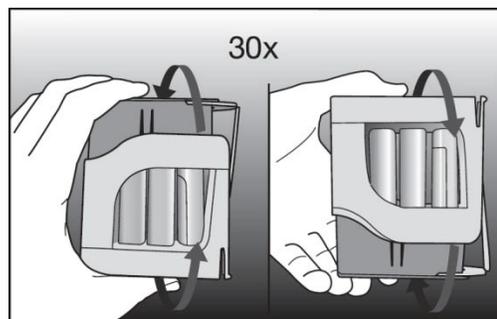
Método

Preparação do cartucho de reagente

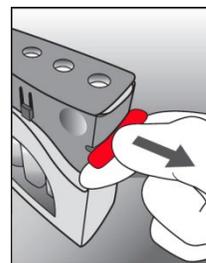
Da primeira vez que utilizar o cartucho do reagente, tem de seguir os passos seguintes para instalar corretamente o cartucho no instrumento BIO-FLASH. Nota: Não utilize o cartucho de reagente se observar quaisquer sinais de danos.

Cartucho de Reagente QUANTA Flash GBM: As micropartículas assentam durante o envio e armazenamento e necessitam de agitação para voltarem a ficar em suspensão.

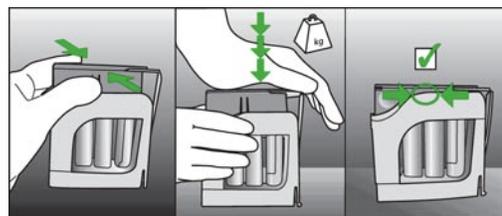
1. Da primeira vez que utilizar o cartucho, inverta suavemente o cartucho 30 vezes, evitando a formação de espuma. Verifique a re-suspensão completa das micropartículas. Se as micropartículas não estiverem totalmente em suspensão, continue a inverter o cartucho até que as micropartículas estejam completamente em suspensão. Se as micropartículas não ficarem em suspensão, **NÃO UTILIZE O CARTUCHO**.



2. Assim que as micropartículas ficarem em suspensão, coloque o cartucho de reagente numa superfície sólida para remover a patilha vermelha. Com uma mão, segure o cartucho de reagente no lugar. Com a outra mão, segure firmemente a patilha vermelha na parte de trás do cartucho de reagente e puxe-a totalmente para fora.



3. Pressione as duas patilhas nos lados da tampa perfurada (parte cinzenta) e exerça pressão na parte superior do cartucho de reagente até encaixar numa posição bloqueada. As patilhas deverão deixar de estar visíveis. **NÃO INVERTA O CARTUCHO ABERTO**.



4. Coloque cuidadosamente o cartucho de reagente em qualquer ranhura aberta no carrossel do reagente do instrumento BIO-FLASH. Quando o cartucho é colocado no carrossel do reagente, o instrumento executa a mistura periódica adicional das esferas.

Calibração do ensaio

1. Tem de calibrar-se cada lote do cartucho de reagente novo antes da primeira utilização e, daí em diante, a cada 75 dias. O software não permitirá utilizar um lote se estes requisitos não forem cumpridos.
2. Consulte a seção intitulada **QUANTA Flash® GBM Calibradores 701141** deste Folheto de Instruções relativamente a instruções pormenorizadas sobre como calibrar o cartucho de reagente.
3. Quando a calibração tiver sido validada, o lote do cartucho de reagente onde se realizou a calibração está pronto a ser utilizado.

Programação e realização de testes

1. Pressione o botão **Worklist** na parte superior do ecrã e selecione o separador **Racks** no fundo.
2. Selecione o rack de amostra a utilizar realçando o rack no ecrã ou digitalizando o código de barras com o leitor de código de barras portátil. Digitalize ou escreva o nome da amostra, selecione o tipo de amostra, o tipo de recipiente (tubo/taça) e selecione GBM a partir do painel do ensaio. Repita estes passos para todas as amostras.
3. Carregue as amostras nas posições selecionadas no rack de amostras e carregue o rack no carrossel de amostras do instrumento.
4. Se todos os materiais necessários estiverem colocados no instrumento, o ícone “iniciar” estará disponível, a verde, na parte superior do ecrã. Pressione o ícone **Start F4** para iniciar o ensaio.

Controlo de qualidade

Os Controlos QUANTA Flash GBM (vendidos em separado - INOVA Número de Item 701142) contêm os Controlos GBM Positivos e Negativos. Consulte a seção intitulada **QUANTA Flash® GBM Controlos 701142** deste Folheto de Instruções relativamente a instruções pormenorizadas sobre como introduzir o valor da unidade e o desvio padrão de cada controlo no software, bem como sobre o funcionamento dos controlos. Recomenda-se que se testem os controlos pelo menos uma vez nos dias em que se utiliza o ensaio; no entanto, os utilizadores também deverão considerar os requisitos regulamentares locais/nacionais.

Cálculo dos resultados

Para cada lote novo de QUANTA Flash GBM produz-se uma Curva Modelo de seis pontos na INOVA. Esta curva logística de quatro parâmetros está codificada no código de barras de cada cartucho de reagente. Assim que o cartucho de reagente tenha sido calibrado, a curva de trabalho específica da máquina será utilizada para converter as ULR em UQ. Pode então classificar-se a reatividade do anticorpo para GBM de acordo com a tabela abaixo.

<u>Reatividade</u>	<u>UQ</u>
Negativo	<20
Positivo	≥20

A reatividade em UQ está relacionada diretamente com o título do autoanticorpo na amostra do doente. Aumentos e diminuições nas concentrações do anticorpo no doente refletir-se-ão numa subida ou descida correspondente em UQ, proporcionalmente à quantidade de anticorpo.

O intervalo passível de relatório do ensaio é de 2,9 UQ para 1437,8 UQ. Se o resultado de um doente for inferior a 2,9 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “<2,9 UQ”. Visto ser inferior a 20 UQ, considera-se um resultado negativo. Se o resultado de um doente for superior a 1437,8 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “>1437,8 UQ”. Este é considerado um resultado positivo. O software BIO-FLASH disponibiliza uma opção de Novo teste automático. Se esta opção estiver selecionada, o instrumento retestará automaticamente qualquer amostra que tenha um resultado >1437,8 UQ diluindo-a mais por um fator de 20, e calculará a UQ real utilizando este fator de diluição adicional.

Interpretação dos resultados

O Ensaio QUANTA Flash tem capacidade para detetar pequenas diferenças em populações de doentes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência, com base nos seus controlos e população de doentes em função dos seus próprios procedimentos estabelecidos.

Sugere-se que os resultados apresentados pelo laboratório incluam a declaração: “Obtiveram-se os seguintes resultados com o imunoensaio quimioluminescente INOVA QUANTA Flash GBM. Valores obtidos com métodos de ensaio de diferentes fabricantes não podem ser comparados. A magnitude dos níveis de anticorpos descritos não pode ser sempre correlacionada com um título final”.

Limitações do procedimento

1. Nem todos os doentes com Síndrome de Goodpasture são positivos para anticorpos GBM.
2. Os resultados deste ensaio devem ser utilizados em conjunto com as conclusões clínicas e outros testes serológicos.
3. A mistura inadequada dos reagentes antes da primeira utilização pode levar a resultados erróneos.
4. As características de desempenho deste ensaio não foram determinadas para outras matrizes além do soro.

Valores esperados

Para estabelecer os valores esperados, testou-se o soro de 400 dadores de sangue aparentemente saudáveis. A média foi 3,3 UQ e os 95% foram calculados como 5,1 UQ. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios intervalos de referência para refletir a população de referência.

Rastreabilidade

Atualmente não existe uma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos anti-GBM.

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras para a análise de comparação do método incluíram as amostras dos estudos de validação clínica que estavam dentro do intervalo passível de relatório do ensaio. Testaram-se estas amostras no QUANTA Flash GBM e no dispositivo implicado ELISA.

Comparação do Método (N=138)		GBM ELISA			Concordância de percentagem (Intervalo de segurança de 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash® GBM CIA	Positivo	91	2	93	Concordância Pos. = 91,0% (83,6-95,8%)
	Negativo	9	36	45	Concordância Neg. = 94,7% (92,3-99,4%)
	Total	100	38	138	Concordância Total = 92,0% (86,2-96,0%)

Sensibilidade e especificidade clínicas

O estudo de validação clínica incluiu 90 amostras de GPS, 50 com artrite reumatoide, 67 com lúpus eritematoso sistémico, 50 com doença inflamatória intestinal indiferenciada, 50 com esclerose sistémica, 20 com esclerose múltipla, 10 com doença do tecido conjuntivo indiferenciada, 10 com colite ulcerativa, 32 com vírus da hepatite B, 58 com vírus da hepatite C, 10 com vírus da imunodeficiência humana, 10 com sífilis e 30 doentes com outras doenças. Abaixo encontram-se os resultados destes testes:

Estudo clínico (N=487)		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95%)
		GPS	Não GPS	Total	
QUANTA Flash® GBM	Positivo	86	1*	87	Sensibilidade = 95,6% (89,0-98,8%)
	Negativo	4	396	400	Especificidade = 99,7% (98,6-100,0%)
	Total	90	397	487	Concordância Total = 99,0% (97,6-99,7%)

*Uma amostra de um doente com VIH.

Precisão e reprodutibilidade

Avaliou-se a precisão do ensaio QUANTA Flash GBM testando 12 doentes de acordo com o CLSI EP5-A2 e, abaixo, encontram-se os dados resumidos:

Amostr	N	Média	Durante os Testes		Entre Testes		Entre Dias		Total	
			DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV	DP	%CV
A	84	15,5	0,5	3,1%	0,5	3,1%	0,3	1,7%	0,7	4,7%
B	80	21,5	1,0	4,8%	1,2	5,4%	0,3	1,6%	1,6	7,4%
C	80	22,0	1,2	5,3%	0,9	4,2%	0,6	2,5%	1,6	7,3%
D	80	22,7	0,7	3,3%	1,1	4,8%	0,6	2,8%	1,5	6,5%
E	84	29,1	1,2	4,1%	0,8	2,9%	0,0	0,0%	1,4	4,9%
F	84	34,0	0,9	2,6%	1,1	3,1%	0,7	2,0%	1,5	4,5%
G	84	31,1	1,1	3,6%	0,6	1,9%	0,5	1,6%	1,4	4,4%
H	84	49,8	1,6	3,3%	1,3	2,6%	0,6	1,3%	2,2	4,4%
I	80	96,9	3,0	3,1%	1,9	1,9%	0,4	0,4%	3,5	3,6%
J	84	401,5	11,2	2,8%	10,9	2,7%	6,4	1,6%	16,9	4,2%
K	84	657,7	20,7	3,1%	17,1	2,6%	14,8	2,3%	30,7	4,7%
L	80	1189,1	113,2	9,5%	90,3	7,6%	27,4	2,3%	147,4	12,4%

Limites de detecção; intervalos lineares e passíveis de relatório

De acordo com a CLSI EP17-A, o limite de detecção inferior deste ensaio é aproximadamente 851 URL, que equivalem a 0,7 UQ, o que é bastante abaixo do intervalo razoável. O limite superior de detecção é cerca de 620 000 RLU, que é aproximadamente 38% acima do topo do intervalo razoável. Todo o intervalo passível de relatório, desde 2,9 UQ até 1437,8 UQ, é linear. Realizou-se um estudo de linearidade de acordo com a CLSI EP6-A e abaixo encontram-se os dados resumidos:

Amostra	Intervalo do Teste (UQ)	Inclinação (95% IS)	Interceção Y (95% IS)	R ²
1	1,7 a 17,6	0,95 (0,91 a 1,00)	0,02 (-0,29 a 0,69)	0,99
2	3,5 a 35,1	1,01 (0,97 a 1,05)	-0,277 (-1,14 a 0,59)	0,99
3	4,7 a 46,9	0,99 (0,95 a 1,04)	-0,202 (-1,35 a 1,94)	0,99
4	10,6 a 97,1	0,98 (0,95 a 1,01)	-1,252 (-2,89 a 0,39)	1,00
5	60,9 a 610,5	0,90 (0,96 a 1,01)	-0,666 (-9,89 a 8,56)	1,00
6	155,9 a 1558,6	0,93 (0,87 a 1,00)	22,640 (-37,80 a 83,08)	0,98

Interferência

As amostras que contêm até 10 mg/dl de bilirrubina, 200 mg/dl de hemoglobina, 1000 mg/dl de triglicéridos, 224 mg/dl de colesterol ou 500 UI/ml IgM de fator reumatoide não mostraram interferência no QUANTA Flash GBM.

Calibradores

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

Aplicação diagnóstica

Os Calibradores QUANTA Flash GBM destinam-se a utilização com o imunoensaio quimioluminescente (EQL) QUANTA Flash GBM no instrumento BIO-FLASH[®]. Cada calibrador estabelece um ponto de referência para a curva de trabalho utilizada na medição de autoanticorpos para membrana basal antiglomerular (GBM) IgG em soro humano.

Resumo e princípios do procedimento

O QUANTA Flash GBM CIA utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que está armazenada no código de barras do cartucho de reagente. Os Calibradores QUANTA Flash GBM estão concebidos para produzir uma Curva de Trabalho específica do instrumento, a partir de parâmetros da Curva Modelo, com um ponto de decisão baseado nas características de desempenho e na avaliação clínica do QUANTA Flash GBM CIA. Antes da atribuição do valor, testam-se os calibradores em vários instrumentos com diversos lotes de reagentes.

Reagentes

1. Calibrador 1 do QUANTA Flash GBM: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para GBM, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,7 ml (cor rósea, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes).
2. Calibrador 2 do QUANTA Flash GBM: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para GBM, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,7 ml (cor rósea, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes).

Advertências

1. os calibradores contêm um químico (0,02% clorafenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. Este produto é venenoso e pode ser tóxico se for ingerido ou absorvido pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de chumbo ou cobre das canalizações formando azidas metálicas explosivas. Por esta razão, ao deitar fora os restos de reagentes é necessário deixar correr água em quantidade abundante para evitar a formação destas substâncias.
3. Todo o material de origem humana utilizado na preparação dos controlos deste produto foi testado e deu resultados negativos para métodos aprovados pela FDA para anticorpos de HIV, HBsAg e HCV. Contudo, nenhum teste pode garantir com certeza absoluta a ausência de HIV, HBV, HCV ou outros agentes infecciosos. Portanto, devem manipular-se os Calibradores QUANTA Flash GBM como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.⁵
4. Usar equipamento de proteção pessoal apropriado para trabalhar com os reagentes.
5. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Observar todas as regulamentações ambientais nacionais e locais relativas à eliminação de resíduos.

Precauções

1. Este produto destina-se a utilização para diagnóstico *In Vitro*.
2. Os calibradores QUANTA Flash GBM destinam-se a ser utilizados com o ensaio QUANTA Flash GBM.
3. Não transfira os reagentes calibradores para tubos secundários. O instrumento utiliza os códigos de barras nos tubos para combinar os calibradores com o tipo de ensaio adequado.
4. Após aberto, um tubo calibrador mantém-se bom durante um período de 8 horas ou 4 calibrações, após o qual tem de eliminar-se.
5. A contaminação química dos reagentes pode surgir devido a limpeza ou lavagem inadequada do instrumento. Resíduos de químicos laboratoriais comuns, como formalina, lixívia, etanol ou detergente, podem causar interferência no ensaio. Certifique-se de que segue o procedimento de limpeza do instrumento recomendado, conforme definido no manual do operador do BIO-FLASH.

Precauções particulares de conservação

1. Conserve os calibradores por abrir a 2-8° C. Não congele. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada, quando armazenados e manipulados conforme descrito no protocolo.
2. Devem eliminar-se os calibradores abertos após 8 horas.

Procedimento

1. Tem de calibrar-se cada lote do cartucho de reagente novo antes da primeira utilização. O software não permitirá utilizar este lote novo até que seja calibrado. Para além disso, tem de calibrar-se cada lote de cartucho de reagente a cada 75 dias.
2. Antes da utilização, tem de misturar-se suavemente cada calibrador para garantir a homogeneidade. Evite a formação de espuma, uma vez que as bolhas podem interferir com a deteção do nível do líquido dos instrumentos. Destape cada tubo calibrador e coloque ambos numa prateleira de amostras, com os códigos de barras virados para a frente através dos espaços na prateleira. Coloque a prateleira de amostras no carrossel de amostras no instrumento BIO-FLASH e feche a porta. O instrumento lerá os códigos de barras nos tubos calibradores e identificará o cartucho de reagente necessário. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH.
3. O instrumento testará então cada calibrador em triplicado. Após os Calibradores terem sido testados, o software exigirá a validação da calibração. A partir do ecrã **Instrument Summary**, clique no botão de seta **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Selecione **Calibration Ctrl-F3**. Na janela Calibração, realce o ensaio pretendido e clique em **Details**.
4. Na nova janela **Calibration Details**, selecione a calibração que acabou de ser executada. A Curva Modelo aparece como uma linha tracejada, ao passo que a Curva de Trabalho aparece como uma linha contínua. Se os resultados da calibração forem válidos, aparecerá um botão de validação no canto inferior esquerdo do ecrã. Clique no botão **Validate Calibration**.
5. Quando a calibração tiver sido validada, o lote do cartucho de reagente onde se realizou a calibração está pronto a ser utilizado. Recomenda-se testar os Controlos QUANTA Flash GBM (vendidos separadamente – número de peça 701142) após a calibração de um lote de cartucho de reagente.

Rastreabilidade

Atualmente não existe uma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos anti-GBM.

Limitações

Estes calibradores estão concebidos para 4 calibrações. O tempo total em que os tubos calibradores podem estar destapados dentro do instrumento é de 8 horas. Se se deixarem os calibradores destapados, dentro do instrumento, durante mais tempo, dever-se-ão eliminar. Utilizar os mesmos tubos calibradores durante mais de 4 calibrações e/ou mais de 8 horas pode originar uma calibração incorreta do ensaio que, por sua vez, pode fornecer resultados errados.

Controlos

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

Aplicação diagnóstica

Utilizam-se os Controlos QUANTA Flash GBM para controlo da qualidade do kit de imunoensaio quimioluminescente (EQL) QUANTA Flash GBM testado num instrumento BIO-FLASH[®], utilizado na medição de autoanticorpos para membrana basal antglomerular (GBM) IgG em soro humano.

Resumo e princípios do procedimento

Os Controlos QUANTA Flash GBM são constituídos por um Controlo Negativo e um Controlo Positivo. Cada um contém uma quantidade diferente de anticorpos GBM. O Controlo Negativo destina-se a avaliar a precisão e a exatidão do ensaio com níveis de anticorpo muito baixos. O Controlo Positivo destina-se a avaliar a precisão e a exatidão do ensaio com níveis de anticorpo desde moderados a elevados.

Reagentes

1. Controlo Negativo do QUANTA Flash GBM: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para GBM, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,5 ml (cor rósea, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes).
2. Controlo Positivo do QUANTA Flash GBM: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para GBM, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,5 ml (cor rósea, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes).

Advertências

1. Os controlos contêm um químico (0,02% clorafenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. Este produto é venenoso e pode ser tóxico se for ingerido ou absorvido pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de chumbo ou cobre das canalizações formando azidas metálicas explosivas. Por esta razão, ao deitar fora os restos de reagentes é necessário deixar correr água em quantidade abundante para evitar a formação destas substâncias.
3. Todo o material de origem humana utilizado na preparação dos controlos deste produto foi testado e deu resultados negativos para métodos aprovados pela FDA para anticorpos de HIV, HBsAg e HCV. Contudo, nenhum teste pode garantir com certeza absoluta a ausência de HIV, HBV, HCV ou outros agentes infecciosos. Portanto, devem manipular-se os Controlos QUANTA Flash GBM como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.⁵
4. Usar equipamento de proteção pessoal apropriado para trabalhar com os reagentes.
5. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Observar todas as regulamentações ambientais nacionais e locais relativas à eliminação de resíduos.

Precauções

1. Este produto destina-se a utilização para diagnóstico *In Vitro*.
2. Os Controlos QUANTA Flash GBM destinam-se a ser utilizados com o ensaio QUANTA Flash GBM.
3. Não transfira os reagentes do controlo para tubos secundários. O instrumento utiliza os códigos de barras nos tubos para identificar o controlo.
4. Uma vez aberto, cada tubo de controlo está em condições de ser utilizado até 15 vezes, com um tempo máximo de **10 minutos** inserido no instrumento **por utilização**.
5. A contaminação química dos reagentes pode surgir devido a limpeza ou lavagem inadequada do instrumento. Resíduos de químicos laboratoriais comuns, como formalina, lixívia, etanol ou detergente, podem causar interferência no ensaio. Certifique-se de que segue o procedimento de limpeza do instrumento recomendado, conforme definido no manual do operador do BIO-FLASH.

Precauções particulares de conservação

1. Conserve os controlos por abrir a 2-8 °C. Não congele. Os reagentes permanecem estáveis até à data de validade indicada, quando armazenados e manipulados conforme descrito no protocolo.
2. Podem utilizar-se os controlos abertos até 15 vezes, com um tempo máximo de **10 minutos** inseridos no instrumento por utilização. O tempo total em que os tubos de controlo podem estar abertos colocados no instrumento é de 2 horas e meia, ou 10 minutos por utilização. Se se deixarem os controlos abertos, colocados no instrumento, por um período total superior a 2 ½ horas, dever-se-ão eliminar. Utilizar o mesmo tubo de controlo durante mais de 15 utilizações e/ou mais de um total de 2½ horas, pode originar resultados errados.
3. Para a estabilidade ideal, retire os controlos do sistema imediatamente após a amostragem e guarde-os a 2-8 °C tapados no frasco original.

Procedimento

Para criar novos materiais de CQ para o ensaio GBM

1. Antes de utilizar Controlos QUANTA Flash GBM pela primeira vez no instrumento, tem de introduzir no software o nome, o lote, as réplicas, data de validade, o valor (ou dose) e as informações de DP alvo.
2. A partir do ecrã **Instrument Summary**, clique no botão de seta **Choose more option – Ctrl-M (▼)**. Selecione **QC Ctrl-F2**. Clique no botão **New QC Material**.
3. Com cada conjunto de Controlos está incluída uma ficha técnica de dados específica do lote. Introduza primeiro o nome, o número do lote, a data de validade desta folha de dados no software. Em seguida, clique no botão **Add Assay**. Na nova janela, certifique-se de que a caixa **Show All Assays** está marcada. Selecione o ensaio GBM da lista e clique em **Add**. Por fim, introduza na dose alvo e DP alvo. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Para criar um novo lote para materiais de CQ existentes

1. Antes de utilizar um lote novo de Controlos QUANTA Flash GBM pela primeira vez, tem de introduzir no software o lote, a data de validade, o valor (ou dose) e as informações de DP alvo.
2. A partir do ecrã **Instrument Summary**, clique no botão de seta **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Selecione **QC Ctrl-F2**. Realce o ensaio GBM na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material do controlo adequado à direita (“GBMN” para o Controlo Negativo ou “GBMP” para o Controlo Positivo). Clique no botão **New QC Lot**.
3. Com cada conjunto de Controlos está incluída uma ficha técnica de dados específica do lote. Introduza as informações desta ficha técnica de dados no software. Estas deverão incluir o número do lote, a data de validade, a dose alvo e o DP alvo. Se necessário, clique no botão **Add Assay**. Na nova janela, certifique-se de que a caixa **Show All Assays** está marcada. Selecione o ensaio GBM da lista e clique em **Add**. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Recomenda-se a utilização dos controlos QUANTA Flash GBM uma vez por cada dia que se utilize o ensaio; no entanto, os utilizadores também deverão considerar os requisitos regulamentares locais/nacionais.

Antes da utilização, tem de misturar-se suavemente cada controlo para garantir a homogeneidade. Evite a formação de espuma, uma vez que as bolhas podem interferir com a deteção do nível do líquido dos instrumentos. Destape cada tubo de controlo e coloque ambos numa prateleira de amostras, com os códigos de barras virados para a frente através dos espaços na prateleira. Coloque a prateleira de amostras no carrossel de amostras no instrumento BIO-FLASH e feche a porta. O instrumento lerá os códigos de barras nos tubos de controlo e identificará o cartucho de reagente necessário. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH.

Rastreabilidade

Atualmente não existe uma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos anti-GBM.

Limitações

Estes controlos estão concebidos para 15 utilizações. A etiqueta de cada tubo de controlo tem uma fila de 15 caixas que podem retirar-se para verificar o número de utilizações. O tempo total em que os tubos de controlo podem estar abertos colocados no instrumento é de 2 horas e meia, ou 10 minutos por utilização. Se se deixarem os controlos abertos, colocados no instrumento, durante mais tempo, dever-se-ão eliminar. Utilizar os mesmos tubos de controlo durante mais de 15 utilizações e/ou mais de um total de 2 horas e meia, pode originar resultados errados.

Referências

1. Pedchenko V, Bondar O, Fogo AB, Vanacore R, Voziyan P, Kitching AR *et al.*: **Molecular architecture of the Goodpasture autoantigen in anti-GBM nephritis.** *N Engl J Med* 2010, **363**: 343-354.
2. Westman KW, Bygren PG, Eilert I, Wiik A, Wieslander J: **Rapid screening assay for anti-GBM antibody and ANCA; an important tool for the differential diagnosis of pulmonary renal syndromes.** *Nephrol Dial Transplant* 1997, **12**: 1863-1868.
3. Mahler M, Radice A, Sinico RA, Damoiseaux J, Seaman A, Buckmelter K *et al.*: **Performance evaluation of a novel chemiluminescence assay for detection of anti-GBM antibodies: an international multicenter study.** *Nephrol Dial Transplant* 2011.
4. Jaskowski TD, Martins TB, Litwin CM, Hill HR: **Comparison of four enzyme immunoassays for the detection of immunoglobulin G antibody against glomerular basement membrane.** *J Clin Lab Anal* 2002, **16**: 143-145.
5. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** *Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health* 2007, **Fifth Edition.**

Símbolos Utilizados

	Dispositivo médico para diagnóstico <i>In vitro</i>
	Consultar as instruções de utilização
	Limite de temperatura
	Não reutilizar
	Riscos biológicos
	Código do lote
	Número de referência
	Utilizar até
	Fabricante
	Representante autorizado
	Contém o suficiente para < n > testes
	Controlo Positivo
	Controlo Negativo
	Calibrador 1
	Calibrador 2
	Reciclar a caixa de papel
	Este lado para cima

QUANTA Flash é uma marca registada comercial da INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH é uma marca comercial registada da Biokit S.A. © 2012

Fabricado por:

INOVA Diagnostics, Inc.

9900 Old Grove Road

San Diego, CA 92131

Estados Unidos da América

Assistência Técnica (apenas EUA e Canadá): 877-829-4745

Assistência Técnica (Fora dos EUA): 1 858-805-7950

support@inovadx.com

Representante Autorizado na UE:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH

Altenhofstrasse 80

D-66386 St. Ingbert, Alemanha

Tel.: +49-6894-581020

Fax.: +49-6894-581021

www.mt-procons.com

621140PRT

Setembro 2012

Revisão 2

