

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

APENAS PARA EXPORTAÇÃO. NÃO SE DESTINA A VENDA NOS ESTADOS UNIDOS.

Utilização Prevista

O Centrômero QUANTA Flash é um imunoensaio quimioluminescente (IEQ) para a detecção semiquantitativa de autoanticorpos para proteína B de centrômero em soro humano no instrumento BIO-FLASH[®]. Utiliza-se este teste em conjunto com conclusões clínicas para ajudar na avaliação de doenças do tecido conjuntivo, incluindo a esclerose sistêmica.

Resumo e Explicação do Teste

Os anticorpos reativos com a região do centrômero de cromossomas foram os primeiros descritos em 1980.¹ Tradicionalmente, os anticorpos anti-centrômero (CENP) são detetados por imunofluorescência (IIF) utilizando linhas de células de cultura de tecidos de divisão rápida como o HEp-2 como substrato.¹ O que é referido como centrômero não se conhece como consistido por subcomponentes de proteínas, sendo as diagnosticamente mais importantes as CENP-A, CENP-B e CENP-C.^{1,2} Muitas das unidades centrométricas foram isoladas ou clonadas. Muitos outros antígenos foram identificados, mas os anticorpos aos mesmos são reconhecidos com muito menos frequência. A maior parte dos ensaios para a detecção de anticorpos anti-CENP têm como base CENP-B recombinado ¹ que foram reportados como tendo uma sensibilidade de cerca de 95% quando comparado com a IIF utilizando substrato de células HEp-2.^{1,3}

Os anticorpos centrômero são reconhecidos enquanto marcador serológico de uma forma de esclerose sistêmica (SSc) ou escleroderma que é comumente referido como síndrome de CREST (calcinose, fenómeno de Raynaud, imobilidade esofágica, esclerodactilia e telangiectasia).^{1,2} Os doentes com anticorpos anti-centrômero têm tendência a ter uma forma mais benigna de SSc com menos envolvimento sistêmico. Os anticorpos para as proteínas do Centrômero são virtualmente exclusivas em amostras com anticorpos anti-RNA Pol III ou anti-Scl-70.¹

Princípio do Procedimento

O recombinante de proteína B centrômero está revestido por esferas paramagnéticas, que estão guardadas no cartucho de reagente em condições que conservem o antígeno no seu estado reativo. Quando o cartucho do ensaio estiver pronto a ser utilizado pela primeira vez, adiciona-se uma solução tampão ao tubo que contém as esferas conservadas e as esferas são misturadas com o tampão. 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. Pequenas quantidades de soro diluído do doente, as esferas de CENP-B 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 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 anticorpos anti-CENP ligados ao CENP-B nas esferas.

O ensaio de Centrômero QUANTA Flash MPO 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 Centrômetro QUANTA Flash contém os reagentes seguintes para 50 determinações:
 - a. As esferas paramagnéticas revestidas do centrômetro, conservadas antes da primeira utilização.
 - 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.
2. Tampão de ressuspensão, 1 frasco – cor-de-rosa, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes.

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 individual 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. O protocolo para a ressuspensão deve ser criteriosamente respeitado.
4. 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 de reagente no instrumento.
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.

Condições de conservação

1. Conserve os cartuchos de reagente e o tampão de ressuspensão 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 56 dias, período após o qual devem eliminar-se. O software BIO-FLASH monitoriza as datas de validade dos cartuchos colocados, bem como dos lotes do cartucho de reagente.

Colheita da Amostra

Este procedimento deve ser efetuado com uma amostra de soro. As amostras de soro com contaminação bacteriana que sofreram tratamento térmico ou contendo partículas visíveis não devem ser utilizadas. 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 IU/mL IgM de fator reumatoide não mostraram interferência no Centrômetro QUANTA Flash.

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 para transporte da amostra, congelar a -20°C ou temperatura inferior. As amostras congeladas devem ser bem agitadas depois de descongelarem e antes de serem testadas.

Procedimento

Materiais Fornecidos

- 1 Cartucho de Reagente do Centrômetro QUANTA Flash
- 1 Tampão de ressuspensão
- 1 Pipeta de transferência

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 de Centrômetro QUANTA Flash (Número de Peça: 701196)

Controlos de Centrômetro QUANTA Flash (Número de Peça: 701197)

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**.

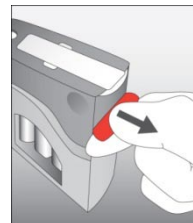
- b. Abra e retire a gaveta dos resíduos no instrumento BIO-FLASH. Elimine quaisquer tinas na gaveta de resíduos secos. Clique em **Yes** na janela **Empty Waste Drawer**. Retire as garrafas ativadoras dos respetivos suportes e clique no botão **Next**. Desaperte as tampas das garrafas antigas de ativadores 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 nova 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 **Next**. Quando tiver substituído a garrafa vazia, clique em **Finish**.

Método

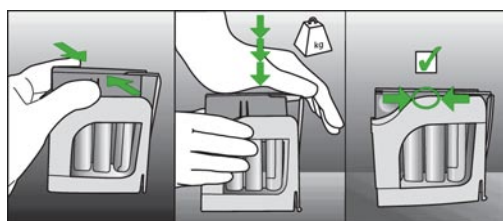
Preparação do cartucho de reagente

Na primeira vez que utilizar um cartucho de reagente, deve furar os selos de conservação nos tubos de reagente e misturar as esferas revestidas do Centrômero com o tampão de ressuspensão. Nota: Não utilize o cartucho de reagente se observar quaisquer sinais de danos.

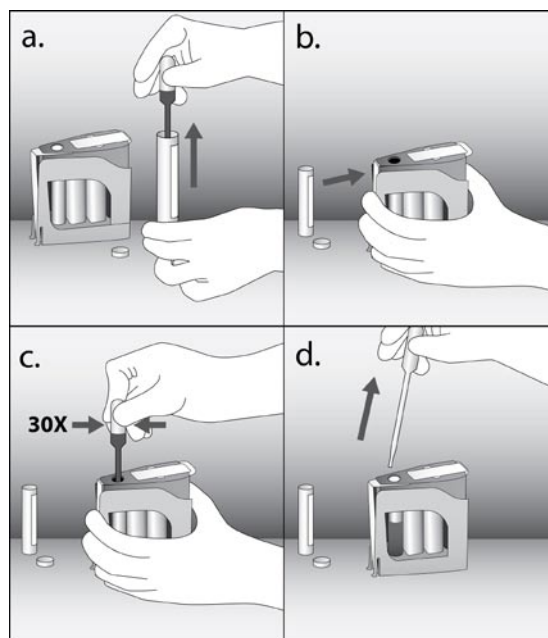
1. Coloque o cartucho de reagente numa superfície sólida. Com uma mão, segure o cartucho de reagente no lugar. Com a outra mão, segure firmemente a patilha vermelha na parte de trás do cartucho de reagente e puxe-a totalmente para fora.



2. 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.



3. Ressuspensa os reagentes do kit:
 - a. Destape o frasco do tampão de ressuspensão e recolha fluido para a pipeta de transferência fornecida. Será utilizado todo o conteúdo do frasco.
 - b. Faça deslizar a porta no cartucho de reagente para a posição de aberta, pressionando suavemente o lado estreito no cartucho de reagente e mantenha-a nesta posição. Transfira analiticamente todo o conteúdo do frasco para o tubo do reagente de esferas, através de um único orifício na parte superior do cartucho de reagente.
 - c. Misture os conteúdos do tubo do reagente esfera aspirando e doseando o líquido, pelo menos 30 vezes. Se estiverem visíveis pedaços de esferas, continue a misturar a solução mais 30 vezes. Se as micropartículas não ficarem em suspensão, NÃO UTILIZE O CARTUCHO.
 - d. Certifique-se de que pipeta todo o líquido antes de retirar a pipeta do tubo e eliminá-la.



4. Retire o autocolante da parte superior do cartucho de reagente para pôr à vista os outros três orifícios.
5. Coloque 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. O software não permitirá utilizar este lote novo até que seja calibrado.
2. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® Centrómero Calibradores do 701196** 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 Centrómero 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 iniciar para iniciar o ensaio.

Controlo de qualidade

Os Controlos do Centrómero QUANTA Flash (vendidos em separado - INOVA Número de Item 701197) contêm os Controlos do Centrómero Positivos e Negativos. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® Centrómero Controlos 701197** 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 Centrómero QUANTA Flash produz-se na INOVA uma Curva Modelo de seis pontos. Esta curva logística de quatro parâmetros está codificada no código de barras de cada cartucho de reagente. Quando um cartucho de reagente tiver sido calibrado, utilizar-se-á uma curva de trabalho específica da máquina para converter a URL em UQ. Pode então classificar-se reatividade do Centrómero, 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 de medição analítica (IMA) do ensaio é de 3,4 UQ para 708,9 UQ. Se o resultado de um doente for inferior a 3,4 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “<3,4 UQ”. Visto ser inferior a 20 UQ, considera-se um resultado negativo. Se o resultado de um doente for superior a 708,9 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “>708,9 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 >708,9 UQ diluindo-a mais por um fator de 20, e calculará a UQ real utilizando este fator de diluição adicional.

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 resultados seguintes com o imunoensaio quimioluminescente do Centrómtero INOVA QUANTA Flash. 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 esclerose sistémica são positivos para anticorpos anti-CENP-B.
2. Os resultados deste ensaio devem ser utilizados em conjunto com as conclusões clínicas e outros testes serológicos.
3. A falha de ressuspender adequadamente as esferas revestidas do Centrómtero pode resultar em valores mais baixos do que se as esferas estivessem devidamente ressuspensas.
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 <3.4 UQ e os 95% foram calculados como <3,4 UQ.

Sensibilidade e especificidade clínicas

O estudo de validação clínica incluiu 137 amostras de doentes com esclerose sistémica (SSc), 50 com artrite reumatoide, 137 com lúpus eritematoso sistémico, 49 com doença inflamatória intestinal, 27 com doença de Crohn, 30 com colite ulcerativa, 19 com esclerose múltipla, 31 com vírus da hepatite B, 24 com vírus da hepatite C, 8 com vírus da imunodeficiência humana, 9 com sífilis e 37 doentes com outras doenças. Incluíram-se ainda amostras de 400 dadores de sangue normais. Abaixo encontram-se os resultados destes testes:

Estudo clínico (N=898)		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95%)
		SSc	Não SSc	Total	
CentrómteroQ UANTA Flash™	Positivo	32	8*	40	Sensibilidade = 23,4% (16,6-31,3%)
	Negativa	105	813	918	Especificidade = 99,0% (98,1-99,6%)
	Total	137	821	958	
* 5 amostras foram retiradas de indivíduos aparentemente saudáveis, uma amostra de um doente com MCTD, uma amostra de um doente CREST incompleto (CRES) e uma amostra de um doente com LES; 7/8 amostras foram também positivas com o ELISA					

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras para a análise de comparação do método incluíram amostras dos estudos de validação clínica e da comparação analítica. Testaram-se estas amostras no Centrômetro QUANTA Flash e no dispositivo implicado ELISA.

Comparação do Método (N=361)		Centrômetro ELISA			Concordância de percentagem (Intervalo de segurança de 95%)
		Positivo	Negativa	Total	
Centrômetro CIAQUANTA Flash®	Positivo	74	1 [#]	75	Concordância Pos. = 85,7% (75,8-91,8%)
	Negativa	13*	273	286	Concordância Neg. = 99,6% (98,0-100,0%)
	Total	87	274	361	Concordância Total = 96,1% (93,6-97,9%)
* três amostras foram de doentes com SSc e 8 amostras foram de doentes com LES; duas com diagnóstico desconhecido					
[#] Doente com MCTD com Síndrome de Raynaulds					

Precisão e reprodutibilidade

Avaliou-se a precisão do ensaio do Centrômetro QUANTA Flash testando 8 doentes de acordo com o CLSI EP5-A2 e, abaixo, encontram-se os dados resumidos:

Amostra	N	Média (UQ)	Durante os Testes		Entre Testes		Entre Dias		Total	
			DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV
A	80	6,2	0,2	2,6%	0,2	3,0%	0,3	5,4%	0,4	6,7%
B	80	13,5	0,5	3,7%	0,3	2,1%	0,7	4,9%	0,9	6,5%
C	80	22,9	0,9	3,7%	0,5	2,2%	0,9	4,0%	1,4	5,9%
D	80	60,9	2,0	3,2%	1,3	2,1%	3,4	5,5%	4,1	6,7%
E	80	103,3	5,7	5,6%	0,4	0,4%	4,2	4,1%	7,1	6,9%
F	80	197,9	13,2	6,7%	0,0	0,0%	11,9	6,0%	17,7	9,0%
G	80	321,4	24,5	7,6%	0,0	0,0%	27,8	8,7%	37,1	11,5%
H	80	463,2	33,6	7,3%	0,0	0,0%	22,9	4,9%	40,7	8,8%

Limites de deteção; intervalos lineares e de medição analítica

De acordo com a CLSI EP17-A, o limite de deteção inferior deste ensaio é aproximadamente 370,2 URL, que equivale a 1,0 UQ, o que é bastante abaixo do intervalo de medição analítico. O limite superior de deteção é cerca de 774.000 RLU, que é aproximadamente 39% acima do topo do intervalo de medição analítico. Todo o intervalo de medição analítico, desde 3,4 UQ até 708,9 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	1,77 - 17,7	0,94 (0,91 a 0,97)	1,01 (0,69 a 1,33)	1,00
2	6,3 - 63,7	0,98 (0,96 a 1,00)	1,89 (1,15 a 2,64)	1,00
3	9,33 - 93,26	0,98 (0,96 a 1,01)	2,45 (1,16 a 3,74)	1,00
4	12,74 - 127,4	0,99 (0,97 a 1,01)	2,27 (0,89 a 3,64)	1,00
5	24,44 - 244,4	0,99 (0,97 a 1,01)	-0,20 (-3,18 a 2,78)	1,00
6	113,59 - 1135,9	0,99 (0,95 a 1,03)	-39,07 (-67,38 a -10,76)	0,99

QUANTA Flash[®] Centromere

Calibradores

701196

Para *Utilização em Diagnóstico In Vitro*

Utilização Prevista

Os Calibradores do Centrômetro QUANTA Flash destinam-se a utilização com o imunoensaio quimioluminescente do Centrômetro QUANTA Flash (CIA) no instrumento BIO-FLASH[®]. Cada calibrador estabelece um ponto de referência para a curva de trabalho utilizada para determinar valores de Unidades Quimioluminescentes (UQ) na medição de anticorpos do Centrômetro em soro.

Resumo e princípios do procedimento

O Centrômetro QUANTA Flash CIA utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que está armazenada no código de barras do cartucho de reagente. Os Calibradores do Centrômetro QUANTA Flash 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 ómero A Flash CIA. Antes da atribuição do valor, testam-se os calibradores em vários instrumentos com diversos lotes de reagentes.

Reagentes

1. Calibrador 1 do Centrômetro QUANTA Flash: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,3 mL de reagente pré-diluído pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos humanos para centrômetro em solução tampão, estabilizadores e conservantes.
2. Calibrador 2 do Centrômetro QUANTA Flash: dois (2) tubos marcados com código de barras contendo 0,3 mL de reagente pré-diluído e pronto a utilizar. Os calibradores contêm anticorpos humanos para o centrômetro no tampão, estabilizadores 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. Logo, devem manipular-se os Calibradores do Centrômetro QUANTA Flash como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.⁵
4. Usar equipamento de proteção individual 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 do Centrômero QUANTA Flash destinam-se a utilização com o ensaio Centrômero QUANTA Flash.
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.

Condições 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.
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 num rack de amostras, com os códigos de barras virados para a frente através dos espaços no rack. Coloque o rack 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 do Centrômero QUANTA Flash (vendidos separadamente – número de peça 701197) após a calibração de um lote de cartucho de reagente.

Rastreabilidade

Não está disponível soro de referência internacional para anticorpos anti-Centrómero que permita a normalização de ensaios de anticorpo anti-Centrómero. Em vez deste, testou-se o soro de referência do Center of Disease Control and Prevention para anticorpos anti-Centrómero (IS2187 ANA #8 ANA#8 FANA padrão Centrómero) e determinou-se uma concentração de 500,8 UQ.

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

Utilização Prevista

Os Controlos do Centrômero QUANTA Flash destinam-se a efeitos de controlo de qualidade do kit de imunoensaio quimioluminescente de Centrômero QUANTA Flash (CIA) num instrumento BIO-FLASH[®].

Resumo e princípios do procedimento

Os Controlos do Centrômero QUANTA Flash MPO são constituídos por um Controlo Negativo e um Controlo Positivo. Cada um contém uma quantidade diferente de anticorpos do Centrômero. 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 Centrômero QUANTA Flash: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 mL de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos humanos para centrômero em solução tampão, estabilizadores e conservantes.
2. Controlo Positivo do Centrômero QUANTA Flash: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 mL de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos humanos para centrômero em solução tampão, estabilizadores 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. Logo, devem manipular-se os Controlos do Centrômero QUANTA Flash como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.⁵
4. Usar equipamento de proteção individual 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 do Centrómtero QUANTA Flash destinam-se a utili com Centrómtero QUANTA Flash.
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.

Condições 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 2 horas e meia, 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 do CENTRÓMERO

1. Antes de utilizar Controlos do Centrómtero QUANTA Flash pela primeira vez no instrumento, tem de introduzir no software o nome, 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**. Clique no botão **New QC Material**.
3. Com cada conjunto de Controlos está incluída uma ficha 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 do Centrómtero 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 do Centrómtero QUANTA Flash 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 CEN na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material do controlo adequado à direita ("CENN" para o Controlo Negativo ou "CENP" para o Controlo Positivo). Clique no botão **New QC Lot**.

3. Com cada conjunto de Controlos está incluída uma ficha de dados específica do lote. Introduza as informações desta ficha 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 CEN da lista e clique em **Add**. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Recomenda-se a utilização dos controlos do Centrómetro QUANTA Flash 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 num rack de amostras, com os códigos de barras virados para a frente através dos espaços no rack. Coloque o rack 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

Não está disponível soro de referência internacional para anticorpos anti-Centrómetro que permita a normalização de ensaios de anticorpo anti-Centrómetro. Em vez deste, testou-se o soro de referência do Center of Disease Control and Prevention para anticorpos anti-Centrómetro (IS2187 ANA #8 ANA#8 FANA padrão Centrómetro) e determinou-se uma concentração de 500,8 UQ.

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. Fritzler MJ, Rattner JB, Luft LM, Edworthy SM, Casiano CA, Peebles C, et al. **Historical perspectives on the discovery and elucidation of autoantibodies to centromere proteins (CENP) and the emerging importance of antibodies to CENP-F.** *Autoimmun Rev* 2011, **10**:194-200.
2. Mahler M, Fritzler MJ: **Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases.** *Ann N Y Acad Sci* 2010; **1183**:267-287.
3. Mahler M, You D, Baron M, Taillefer SS, Hudson M; Canadian Scleroderma Research Group(CSRG), Fritzler MJ. **Anti-centromere antibodies in a large cohort of systemic sclerosis patients: comparison between immunofluorescence, CENP-A and CENP-B ELISA.** *Clin Chim Acta* 2011, **412**:1937-1943.
4. Walker JG, Pope J, Baron M, Leclercq S, Hudson M, Taillefer S, Edworthy SM, et al. **The development of systemic sclerosis classification criteria.** *Clin Rheumatol* 2007, **26**:1401-1409.
5. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** *Centers for Disease Control/National Institute of Health*, 2009, **Fifth Edition**.

Símbolos Utilizados



Dispositivo médico para diagnóstico *In Vitro*



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 comercial registada 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

621195PRT

Maio 2012
Revisão 0

