

Aplicação diagnóstica

O QUANTA Flash DGP Screen é um imunossensaio quimioluminescente (IEQ) para a detecção semiquantitativa de anticorpos IgG e IgA péptidos de gliadina anti-desamidados (DGP) no soro humano no instrumento BIO-FLASH®. É um auxiliar no diagnóstico da doença celíaca e dermatite hipertiforme em conjunto com outros dados clínicos e testes laboratoriais.

Resumo e explicação do teste

A doença celíaca (DC) é uma enteropatia sensível ao glúten cujas características principais incluem inflamação e esmagamento característico da mucosa intestinal, resultando numa síndrome de má absorção. A etiologia exacta da doença permanece desconhecida, à excepção da gliadina, fracção solúvel do álcool de glúten do trigo, que é claramente o agente tóxico.^{1,2} Estudos detectaram uma prevalência de 0,7-1,0% de DC na população geral com prevalência aumentada até 20% em algumas populações de risco.^{3,4}

Anteriormente, era feita uma série de biópsias intestinais múltiplas para diagnosticar a doença celíaca e distúrbios relacionados. Mais recentemente, a Sociedade Europeia de Gastreterologia e Nutrição Pediátrica (ESPGAN)⁵ e vários outros estudos publicados⁶⁻⁸ recomendaram a utilização de marcadores serológicos como, por exemplo, anti-gliadina, anti-DGP, anti-tTG e anticorpos endomisiais para reduzir o número de biópsias intestinais necessárias para realizar um diagnóstico.

Trabalhos recentes revelaram que os anticorpos de doentes celíacos se ligam em número muito limitado a epítomos específicos da molécula de gliadina que foram selectivamente desamidados.⁹⁻¹¹ Pensa-se que a desamidação é causada pela enzima associada à doença celíaca, transglutaminase do tecido.¹² Com base nas observações anteriores, foram desenvolvidos ensaios que utilizam péptidos de gliadina desamidados. Possuem uma maior precisão de diagnóstico da doença celíaca do que os ensaios padrão anti-gliadina.^{7,13-16}

Uma estratégia de rastreio sensível para a detecção de pessoas com doença celíaca em populações em risco inclui testes para anticorpos IgG e IgA de péptidos de gliadina diamidados, uma vez que uma proporção significativa de doentes celíacos são IgA deficientes.¹⁴ Vários estudos mostram uma elevada utilidade clínica desta estratégia de teste.^{17,13-16}

A dermatite herpetiforme (DH) é uma doença de pele que, tal como a doença celíaca, é causada pela ingestão da proteína do trigo. A maioria dos doentes com DH apresentam atrofia das vilosidades jejunais idêntica à encontrada nos casos de doença celíaca e uma dieta rigorosa sem glúten melhora, tanto as lesões intestinais como as dermatológicas.^{18,19} Os métodos serológicos actuais como, por exemplo, os testes de EMA e de tTG apresentam desempenhos decepcionantes quando usados para a DH, com sensibilidades de apenas 45-75%¹⁸⁻²⁰ quando comparados com os valores de 95% ou superiores, encontrados para a doença celíaca. Um estudo detectou que os anticorpos anti-DGP são mais comuns que os anticorpos anti-tTG em doentes com DH.²⁰

O QUANTA Flash DGP Screen é um teste com desempenho melhorado para a detecção de anticorpos IgG e IgA contra um péptido sintético e selectivamente desamidado, derivado de uma proteína do trigo, a gliadina, e, desse modo, permite a detecção de doença celíaca, mesmo com a coexistência de deficiência de IgA.

Princípio do procedimento

O péptido de gliadina diamidado sintético está revestido por esferas de látex paramagnéticas, que estão guardadas no cartucho de reagente em condições que conservem o antigénio no seu estado reactivo. 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 solução de lavagem do sistema adicionado a uma tina plástica. Pequenas quantidades de soro do doente diluído, as esferas de DGP 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 reacção luminescente quando se adicionam os reagentes (“Activadores”) à tina. A luz produzida a partir desta reacção é medida como Unidades Relativas de Luz (URL) pelo sistema óptico BIO-FLASH. As URL são proporcionais à quantidade de conjugado de isoluminol ligado que, por sua vez, é proporcional à quantidade de anticorpos anti-DGP ligados ao DGP nas esferas.

O ensaio QUANTA Flash DGP Screen 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

O cartucho de reagente QUANTA Flash DGP Screen contém os reagentes seguintes para 50 testes:

1. Esferas paramagnéticas revestidas DGP, num líquido contendo tampão, estabilizadores de proteína e conservante.
2. Tampão de ensaio – cor-de-rosa, contendo tampão salino Tris, Tween 20, estabilizadores proteicos e conservante.
3. Marcador IgA/IgG – anticorpos IgG e IgA 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 protecção 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 por 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 63 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 reagente.

Colheita da amostra

Este procedimento deve ser efectuado 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 continham até 10 mg/dl bilirrubina, 200 mg/dl hemoglobina, 1000/224 mg/dl de triglicéridos/colesterol ou 500 UI/ml IgM factor reumatóide não mostraram interferência no QUANTA Flash DGP Screen. Não deve utilizar-se soro muito hemolizado ou itérico.

Após a colheita, o soro deve ser separado do coágulo. O documento H18-A3 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 DGP Screen

Materiais adicionais necessários mas não fornecidos

Instrumento BIO-FLASH com computador

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

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

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

Solução de limpeza BIO-FLASH (Número de Peça: 3000-8211)

Calibradores QUANTA Flash DGP Screen (Número de Peça: 701111)

Controlos QUANTA Flash DGP Screen (Número de Peça: 701112)

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. Retire o recipiente de resíduos sólidos e elimine as tinas usadas de forma adequada. Substitua o recipiente de resíduos sólidos, feche a gaveta dos resíduos e clique em **Sim** na janela **Esvaziar Gaveta dos Resíduos**.
3. Para substituir os activadores, clique no botão **Inventário de Volumes F9** (superior direito).
 - a. No ecrã **Inventário – Volumes**, clique no botão **Activadores** à esquerda. Aparecerá uma janela nova intitulada **Adicionar Activadores – Retirar garrafas antigas**.
 - b. Abra e retire a gaveta dos resíduos no instrumento BIO-FLASH. Elimine quaisquer tinas na gaveta de resíduos secos. Clique em **Sim** na janela **Esvaziar Gaveta dos Resíduos**. Retire as garrafas activadoras dos respectivos suportes e clique no botão **Seguinte**. Desaperte as tampas das garrafas de activadores e substitua por activadores 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 **Adicionar Activadores – Adicionar garrafa 2 de Activador**. Quando o código de barras tiver sido aceite, coloque o Activador 2 no suporte branco. Clique em **Seguinte**.
 - d. Siga as instruções na janela **Adicionar Activadores – Adicionar garrafa 1 de Activador**. Quando o código de barras tiver sido aceite, coloque o Activador 1 no suporte vermelho. Clique em **Terminar**. Substitua a gaveta dos resíduos e feche-a.
4. Para substituir o recipiente da Lavagem do Sistema, clique no botão **Inventário de Volumes F9** (canto superior direito). No ecrã **Inventário – Volumes** clique no botão **Lavagem do Sistema**. Na janela **Adicionar Lavagem do Sistema – Retirar garrafas**, clique em **Seguinte**. Siga as instruções na janela nova **Adicionar Lavagem do Sistema – Adicionar garrafa**. Quando o código de barras tiver sido aceite, se necessário, clique em **Terminar**.
5. Para esvaziar o Recipiente de Resíduos de Fluido, a partir do ecrã **Inventário – Volumes**, clique no botão **Resíduos de Fluido**. Retire e elimine os resíduos de fluido. Clique em **Seguinte**. Quando tiver substituído a garrafa vazia, clique em **Terminar**.

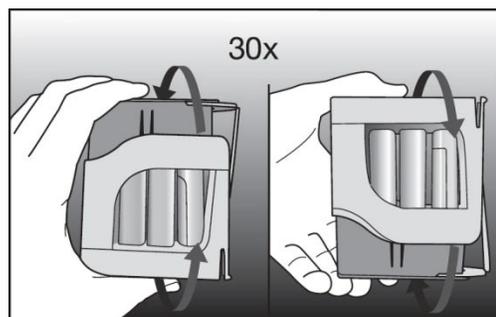
Método

Preparação do cartucho de reagente

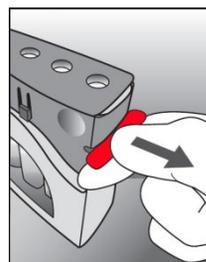
Da primeira vez que utilizar o cartucho do reagente, tem de seguir os passos seguintes para instalar correctamente o cartucho no instrumento BIO-FLASH. Nota: Não utilize o cartucho de reagente se observar qualquer sinal de dano.

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

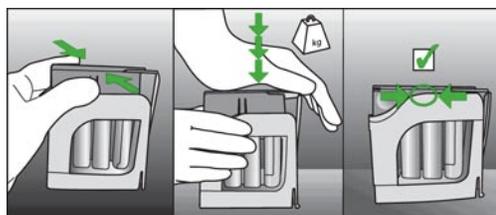
1. Da primeira vez que utilizar o cartucho, inverta suavemente o cartucho 30 vezes, evitando a formação de espuma. Verifique a re-suspensão completa das micropartículas. Se as micropartículas não estiverem totalmente em suspensão, continue a inverter o cartucho até que as micropartículas estejam completamente 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. Assim que o cartucho for colocado no carrossel de reagentes, o instrumento efectua a mistura adicional periódica 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 **Calibradores 701111 QUANTA Flash™ DGP Screen** 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 **Lista de trabalhos** na parte superior do ecrã e seleccione o separador **Prateleiras** no fundo.
2. Seleccione a prateleira de amostra a utilizar realçando a prateleira no ecrã ou digitalizando o código de barras com o leitor de código de barras portátil. Digitalize ou escreva o nome da amostra, seleccione o tipo de amostra, o tipo de recipiente (tubo/taça) e seleccione DGP Screen a partir do painel do ensaio. Repita estes passos para todas as amostras.
3. Carregue as amostras nas posições seleccionadas na prateleira de amostras e carregue a prateleira 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 QUANTA Flash DGP Screen (vendidos em separado - INOVA Número de Item 701112) contêm os Controlos DGP Screen Positivos e Negativos. Consulte a secção intitulada **Controlos 701112 QUANTA Flash™ DGP Screen** 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 todos os dias em que se utiliza o ensaio.

Cálculo dos resultados

Para cada lote novo de QUANTA Flash DGP Screen produz-se uma Curva Modelo de seis pontas. 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 reactividade do anticorpo DGP, de acordo com a tabela abaixo.

<u>Reactividade</u>	<u>UQ</u>
Negativo	<20
Positivo Fraco	20-30
Positivo	>30

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

O intervalo passível de relatório do ensaio é de 0,5 UQ para 1461,8 UQ. Se o resultado de um doente for inferior a 0,5 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “<0,5 UQ”. Visto ser inferior a 20 UQ, considera-se um resultado negativo. Se o resultado de um doente for superior a 1461,8 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “>1461,8 UQ”. Este é considerado um resultado positivo. O software BIO-FLASH disponibiliza uma opção de Novo teste automático. Se esta opção estiver seleccionada, o instrumento retestará automaticamente qualquer amostra que tenha um resultado >1461,8 UQ diluindo-a mais por um factor de 10, e calculará a UQ real utilizando este factor de diluição adicional.

Interpretação dos resultados

O Ensaio QUANTA Flash tem capacidade para detectar 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 INOVA QUANTA Flash DGP Screen. 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 doença celíaca ou dermatite hipertiforme são positivos a anticorpos IgG ou IgA DGP.
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

Determinou-se o corte do ensaio testando 446 amostras caracterizadas clinicamente – sangramentos simples de doentes que foram diagnosticados claramente positivos ou negativos a doença celíaca (e não estava a fazer uma dieta sem glúten). Utilizaram-se estas amostras, -117 positivas clinicamente e 329 negativas clinicamente, para ajustar o corte para 20 UQ para otimizar a sensibilidade e a especificidade a 86,3% e 96,0%, respectivamente, neste conjunto de formação.

Intervalo de referência

Os níveis de anticorpos IgA e IgG anti-DGP foram analisados utilizando o QUANTA Flash DGP Screen, num painel de 351 indivíduos aparentemente saudáveis e dadores de sangue normal (172 mulheres e 179 homens, com idades dos 6 meses aos 82 anos, com uma média de idade de 32 anos e uma idade mediana de 33 anos). Com um cut-off de 20 CU, 7 (2,0 %) das amostras foram positivas no QUANTA Flash DGP Screen. A concentração média foi de 3,8 CU e os valores variaram de <0,5 a 358,8 CU.

Sensibilidade e especificidade clínicas

O estudo de validação clínica incluiu 30 amostras de DC da biblioteca de soros da INOVA (incluindo 7 com deficiência IgA selectiva), 71 controlos sem doença celíaca e 68 amostras de uma workshop tTG (18 controlos DC e 50 controlos sem DC). Um estudo externo separado incluiu 93 amostras de DC e 98 controlos de doença. Estas amostras foram testadas com o QUANTA Flash DGP Screen CIA. Os resultados foram analisados para calcular a sensibilidade e especificidade de DC (n=141) e DH (n=25) separadamente utilizando a mesma população de controlo (n=219).

A sensibilidade e especificidade clínicas do QUANTA Flash DGP Screen em DC:

N=360		Diagnóstico			Análise (95% confiança)
		DC	Sem DC	Total	
QUANTA Flash™ DGP Screen	Positivo	121	4	125	Sensibilidade 85,8% (78,9-91,1%)
	Negativo	20	215	235	Especificidade 98,2% (95,4-99,5%)
	Total	141	219	360	

A sensibilidade e especificidade clínicas do QUANTA Flash DGP Screen na DH:

N=244		Diagnóstico			Análise (95% confiança)
		DH	Sem DH	Total	
QUANTA Flash™ DGP Screen	Positivo	17	4	21	Sensibilidade 68,0% (46,5-85,1%)
	Negativo	8	215	223	Especificidade 98,2% (95,4-99,5%)
	Total	25	219	244	

Distribuição das populações saudáveis e de controlo da doença utilizadas no estudo de validação e o intervalo de referência:

Grupo de pacientes	N	Positivo	Percentagem positiva
Colite ulcerosa	9	0	0%
Doença de Crohn	17	0	0%
Doença inflamatória intestinal (não especificada)	5	0	0%
Infecção por <i>H. pylori</i>	27	2	7,4%
Outras doenças gastrointestinais	11	0	0%
Alergia alimentar	9	0	0%
Diabetes do tipo 1	14	0	0%
Doenças reumáticas sistémicas (várias)	12	0	0%
Doença autoimune da tiróide	40	0	0%
Hepatite viral	13	0	0%
Doença autoimune do fígado	5	0	0%
Controlos sem DC (não especificados)	50	2	4,0%
Total	219	4	1,8%

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras para a análise de comparação do método incluíram as amostras dos estudos de validação clínica (doentes com DC e DH, controlos de outras doenças e dadores de sangue normal) que estavam dentro do intervalo passível de relatório do ensaio. Testaram-se estas amostras no QUANTA Flash DGP Screen e o dispositivo implicado ELISA.

Comparação de métodos (N=228)		DGP Screen ELISA			Concordância de percentagem (Intervalo de segurança de 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash™ DGP Screen CIA	Positivo	30	6*	36	Concordância Pos. = 85,7% (69,7-95,2)
	Negativo	5**	187	192	Concordância Neg. = 96,9% (93,4-98,9%)
	Total	35	193	228	Concordância Total = 95,2 (91,5 – 97,6%)

* Um doente está diagnosticado com DC, outro (um controlo negativo oficina tTG) é também positivo em h-tTG IgA CIA e um é paciente celíaco suspeito sem diagnóstico. As restantes três amostras são de dadores de sangue normais.

** Três amostras são de dadores de sangue normais, enquanto as restantes duas são controlos negativos de oficina tTG

Precisão e reprodutibilidade

Avaliou-se a precisão do ensaio QUANTA Flash DGP Screen testando 7 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
1	84	1354,7	57,7	4,3%	29,0	2,1%	29,4	2,2%	70,9	5,2%
2	84	85,5	3,2	3,7%	2,1	2,5%	0,0	0,0%	3,5	4,1%
3	84	46,7	1,8	3,9%	1,1	2,4%	0,2	0,4%	2,1	4,6%
4	84	13,4	0,4	3,0%	0,2	1,9%	0,1	0,9%	0,5	3,6%
5	84	21,7	0,8	3,8%	0,6	2,7%	0,1	0,5%	1,0	4,7%
6	84	24,1	1,0	4,3%	0,8	3,3%	0,0	0,0%	1,2	5,0%
7	84	26,9	1,0	3,9%	0,6	2,1%	0,0	0,0%	1,0	3,9%

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 570 URL, que equivalem a 0,04 UQ, o que é bastante abaixo do intervalo razoável. O limite superior de detecção é cerca de 1.113.000 RLU, que é aproximadamente 71% acima do topo do intervalo razoável. Todo o intervalo passível de relatório, desde 0,5 UQ até 1461,8 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)	Intercepção Y (95% IS)	R ²
1	1,6 a 31,7	0,96 (0,92 a 1,00)	0,08 (-0,65 a 0,01)	1,00
2	1,4 a 67,7	0,86 (0,84 a 0,89)	1,26 (0,40 a 2,12)	1,00
3	4,9 a 292,8	0,96 (0,92 a 1,00)	1,68 (-4,49 a 7,86)	1,00
4	16,4 a 561,0	0,86 (-0,83 a 0,89)	-0,37 (-9,71 a 8,97)	1,00
5	30,4 a 1271,2	0,92 (0,90 a 0,94)	-3,11 (-16,59 a 10,37)	1,00
6	183,8 a 1470,7	1,04 (0,97 a 1,10)	-6,39 (-67,03 a 54,25)	1,00

Calibradores

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

Aplicação diagnóstica

Os Calibradores QUANTA Flash DGP Screen destinam-se a utilização com o imunoensaio quimioluminescente (EQL) QUANTA Flash DGP Screen 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 IgG e IgA anti-DGP em soro.

Resumo e princípios do procedimento

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

Reagentes

1. QUANTA Flash DGP Screen Calibrador 1: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para DGP, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,3 ml (contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes).
2. QUANTA Flash DGP Screen Calibrador 2: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para DGP, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,3 ml (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 DGP Screen como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.¹⁹
4. Usar equipamento de protecção 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 DGP Screen destinam-se a ser utilizados com o teste QUANTA Flash DGP Screen.
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 por 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.
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 detecção 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 **Resumo do Instrumento**, clique no botão de seta **Escolher mais opções – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **Calibração Ctrl-F3**. Na janela Calibração, realce o ensaio pretendido e clique em **Detalhes**.
4. Na janela **Detalhes da Calibração**, seleccione 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 **Validar Calibração**.
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 DGP Screen (vendidos separadamente – número de peça 701112) após a calibração de um lote de cartucho de reagente.

Rastreabilidade

Actualmente, não existe nenhuma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos IgG ou IgA de péptido de gliadina anti-desamidado.

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 incorrecta 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 DGP Screen para controlo da qualidade do kit de imunoensaio quimioluminescente (EQL) QUANTA Flash DGP Screen testado num instrumento BIO-FLASH.

Resumo e princípios do procedimento

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

Reagentes

1. Controlo negativo QUANTA Flash DGP Screen: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para DGP, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,3 ml (contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes).
2. Controlo positivo QUANTA Flash DGP Screen: Dois (2) tubos marcados com código de barras, com tampão contendo anticorpos de soro humano para DGP, diluídos previamente, prontos a utilizar, 0,3 ml (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 DGP Screen como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.¹⁹
4. Usar equipamento de protecção 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 DGP Screen destinam-se a ser utilizados com o teste QUANTA Flash DGP Screen.
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 por 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 que os tubos de controlo podem estar destapados na placa do instrumento é de 2 ½ horas ou 10 minutos por utilização. Se deixar os controlos, destapados, na placa durante mais de 2 ½ horas no total, estes devem ser deitados fora. Utilizando o mesmo tubo de controlo durante mais de 15 utilizações e/ou mais de 2 ½ horas no total pode dar origem a resultados errados.
3. Para a estabilidade ideal, retire os controlos do sistema imediatamente após a amostra e guarde-os a 2-8°C tapados no frasco original.

Procedimento

Para criar novos materiais de CQ para o teste DGP Screen:

1. Antes de utilizar Controlos QUANTA Flash DGP Screen pela primeira vez no instrumento, introduza 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 **Resumo do Instrumento**, clique no botão de seta **Escolher mais opções – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Realce o ensaio DGP Screen na coluna do lado esquerdo. Em seguida, clique no botão **Novo material de CQ**.
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 **Adicionar ensaio**. Na nova janela, certifique-se de que a caixa **Mostrar todos os ensaios** está marcada. Seleccione o ensaio DGP Screen da lista e clique em **Adicionar**. Por fim, introduza na dose alvo e DP alvo. Clique em **Criar**. 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 DGP Screen pela primeira vez, introduza no software o lote, a data de validade, o valor (ou dose) e as informações de DP alvo.
2. A partir do ecrã **Resumo do Instrumento**, clique no botão de seta **Escolher mais opções – Ctrl-M (▼)**. Seleccione **QC Ctrl-F2**. Realce o ensaio DGP Screen na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material do controlo adequado à direita (“DGPSN” para o Controlo Negativo ou “DGPSP” para o Controlo Positivo). Clique no botão **Lote CQ novo**.

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. Clique em **Guardar**. Execute este processo para ambos os controlos.

Recomenda-se a utilização dos Controlos QUANTA Flash DGP Screen sejam utilizados uma vez cada dia que se utilize o ensaio. 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 detecção 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

Actualmente, não existe nenhuma norma internacional reconhecida para a medição de anticorpos IgG ou IgA de péptido de gliadina anti-desamidado.

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, por um período superior a 2 ½ horas no total, 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.

References

1. Trier JS: Celiac Sprue. *New England Journal of Medicine* 325: 1709-1719, 1991.
2. Troncone R and Ferguson A: Antigliadin antibodies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 12: 150-158, 1991.
3. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, Elitsur Y, Green PH, Guandalini S, Hill ID, Pietzak M, Ventura A, Thorpe M, Kryszak D, Fornaroli F, Wasserman SS, Murray JA, Horvath K: Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med*. 163(3): 286-292, 2003.
4. Dubé C, Rostom A, Sy R, Cranney A, Saloojee N, Garrity C, Sampson M, Zhang L, Yazdi F, Mamaladze V, Pan I, Macneil J, Mack D, Patel D, Moher D.: The prevalence of celiac disease in average-risk and at-risk Western European populations: a systematic review. *Gastroenterology* 128(4 Suppl 1): S57-67, 2005.
5. Working Group of European Society of Paediatric Gastroenterology and Nutrition. Revised criteria for diagnosis of coeliac disease. *Arch Dis Child* 65: 909-911, 1990.
6. McMillan SA, Houghton DJ, et al.: Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium and jejunum in patients attending for jejunal biopsy. *BMJ* 303: 1163-1165, 1991.
7. Sugai E, Moreno ML et al: Celiac disease serology in patients with different pre-test probabilities: Is biopsy avoidable? *World J Gastroenterol* 16: 3144-52, 2010.
8. Burgin-Wolff A, Gaze H, et al.: Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease. *Arch Dis Child* 66: 941-947, 1991.
9. Osman AA, et al.: B-Cell epitopes of gliadin. *Clin Exp Immunol* 121: 248-254, 2000.
10. Aleanzi M, et al.: Celiac disease: Antibody recognition against native and selectively deamidated gliadin peptides. *Clinical Chemistry* 47: 2023-2028, 2001.
11. Schwertz E, et al.: Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. *Clinical Chemistry* 50: 2370-2375, 2004.
12. Fleckenstein B, Qiao S-W, et al: Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides. *J Biol Chem* 279: 17607-16, 2004.
13. Prince HE: Evaluations of the INOVA Diagnostics Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits for Measuring Serum Immunoglobulins G (IgG) and IgA to Deamidated Gliadin Peptides. *Clinical and Vaccine Immunology* 13: 150-151, 2006.
14. Sugai E, et al.: Accuracy of Testing Antibodies to Synthetic Gliadin-Related Peptides in Celiac Disease. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 4: 1112-1117, 2006.
15. Kurppa K, Lindfors K, et al: Antibodies against deamidated gliadin peptides in early stage celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2010 (epub ahead of print).
16. Volta U, Granito A, et al: Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 44: 186-90 (2010).
17. Collin P, et al.: Selective IgA deficiency and coeliac disease. *Scand Journal Gastroenterology* 27: 367-371, 1992.
18. Smecuol E, et al.: Permeability, Zonulin Production, and Enteropathy in Dermatitis Herpetiformis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 3: 335-341, 2005.
19. Beutner EH, et al.: Sensitivity and Specificity of IgA-class antiendomysial antibodies for dermatitis herpetiformis and findings relevant to their pathogenic significance. *Journal of the American Academy of Dermatology* 15: 464-473, 1986.
20. Jaskowski TD, Donaldson MR et al: Novel screening assay performance in pediatric celiac disease and adult dermatitis herpetiformis. *JPGN* 51: 19-23, 2010.
21. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, Fifth Edition, 2007.

Símbolos utilizados

	Dispositivo médico para diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Consultar as instruções de utilização
	Limitação de temperatura
	Não reutilizar
	Riscos biológicos
	Código do lote
	Número de catálogo
	Data de validade
	Fabricante
	Representante autorizado
	Contém o suficiente para < n > testes
	Controlo positivo
	Controlo negativo
	Calibrador 1
	Calibrador 2
	Caixa de papel reciclado
	Este lado para cima

QUANTA Flash é uma marca comercial da INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH é uma marca comercial registada da Biokit S.A. © 2011

Fabricado por:
INOVA Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
United States of America
Assistência técnica (Doméstico) : 877-829-4745
Assistência técnica (Internacional: 00+ 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

621110PRT

Dezembro de 2011
Revisão 2

