

Reagentes

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

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

Utilização prevista

O QUANTA Flash ENA7 é um ensaio quimioluminescente (IEQ) para o rastreio qualitativo de autoanticorpos de Sm, RNP, Ro60 (SS-A), Ro52/TRIM21, SS-B (La), Scl-70 (topoisomerase I) e Jo-1 em soro humano no instrumento BIO-FLASH[®]. A presença destes anticorpos pode ser utilizada em conjunto com descobertas clínicas e outros testes laboratoriais para ajudar no diagnóstico de Lúpus Eritematoso Sistémico (LES), Esclerose Sistémica (ES), Miosite Autoimune (MAI) e Síndrome de Sjogren (SS).

Resumo e explicação do teste

Os anticorpos antinucleares (ANA) encontram-se numa grande variedade de doenças do tecido conjuntivo e funcionam como um ensaio de rastreio de sensibilidade.^{1,2,3} Embora o teste de ANA seja um excelente teste de rastreio para LES (virtualmente, um resultado negativo exclui o LES ativo não é de modo algum um teste específico).^{2,3} Os anticorpos a Antígenos Nucleares Extraíveis (ENA) podem contribuir com informações significativas para diagnóstico e prognóstico quando se avaliam doentes que se suspeita sofrerem de uma variedade de doenças do tecido conjuntivo, tais como LES, ES, SS e HAI.¹ Sete dos autoanticorpos mais úteis e mais comumente utilizados para ENA reagem com os antígenos Sm, RNP, Ro60, Ro52, SS-B, Scl-70 e Jo-1.¹

O kit QUANTA Flash ENA7 CIA permite que as amostras dos doentes sejam simultaneamente reastreadas num único poço para autoanticorpos de Sm, RNP, Ro60, Ro52, SS-B, Scl-70 e Jo-1. As amostras consideradas negativas neste ensaio de rastreio de sensibilidade podem ser reportadas como negativas para Sm, RNP, Ro60, Ro52, SS-B, Scl-70 e Jo-1. As amostras consideradas positivas no teste de rastreio de sensibilidade devem ser novamente testadas com outros testes específicos de ENA, tais como IEQ ou ELISA, para confirmar a positividade, para determinar a especificidade de autoanticorpos e, se desejado, para quantificar níveis de anticorpos específicos. Foi utilizada uma variedade de métodos, incluindo dupla difusão de Ouchterlony e aglutinação passiva para detetar anticorpos para Sm, RNP, SS-A, SS-B, Scl-70 e Jo-1. Também foram desenvolvidos ensaios ELISA clinicamente úteis para detetar anticorpos anti-Sm, RNP, SS-A, SS-B, Scl-70 e Jo-1.

Princípios do procedimento

Ro60, Scl-70, Jo-1, Ro52, SS-B (La) recombinantes e Sm e RNP nativos estão revestidos por esferas paramagnéticas, que estão guardadas no cartucho de reagente em condições que conservam 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 descartável. Pequenas quantidades de soro diluído do doente, as esferas ENA7 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-ENA ligados às esferas ENA 7.

O ensaio QUANTA Flash ENA7 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 o software utiliza para calcular unidades quimioluminescentes (UQ) a partir do valor da URL obtido para cada paciente.

Reagentes

1. O cartucho de reagente QUANTA Flash ENA7 contém os reagentes seguintes para 50 determinações:
 - a. As esferas paramagnéticas revestidas do ENA7 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 2, 1 frasco – contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes.

Advertências

1. O tampão de ensaio contém um químico (0,02% cloranfenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. A azida de sódio é venenosa e pode ser tóxica se for ingerida ou absorvida pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de canalizações de chumbo ou cobre 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 acumulação de azida.
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, este cartucho de reagente deve guardar-se 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. Os 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. Os cartuchos de reagente abertos devem guardar-se no instrumento e permanecem estáveis durante um total de 36 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 microbiana, que sofreram tratamento térmico ou que contêm partículas visíveis não devem ser utilizadas. As amostras que contêm até 10 mg/dL de bilirrubina, 200mg/dL de hemoglobina, 1000/224 mg/dL de triglicéridos/colesterol ou 500 UI/mL IgM de fator reumatoide não mostraram interferência no ensaio QUANTA Flash ENA7.

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, refrigerar 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 QUANTA Flash ENA7
- 1 Tampão de ressuspensão 2
- 1 Pipeta de transferência

Material adicional necessário mas não fornecido

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 QUANTA Flash ENA7 (Número de Peça: 701256)

Controlos QUANTA Flash ENA7 (Número de Peça: 701257)

Utilizar o analisador quimioluminescente BIO-FLASH

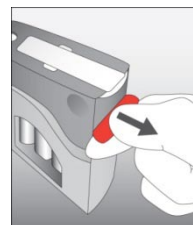
1. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH. Para informações adicionais e resolução de problemas com este ensaio, contacte a assistência técnica da INOVA Diagnostics, Inc. no endereço ou através do número de telefone indicados no final das Instruções deste Folheto de Instruções.
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 do instrumento BIO-FLASH. Elimine quaisquer tinas da 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 com o código de cores 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 com o código de cores vermelho. Clique em **Finish**. Volte a colocar 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

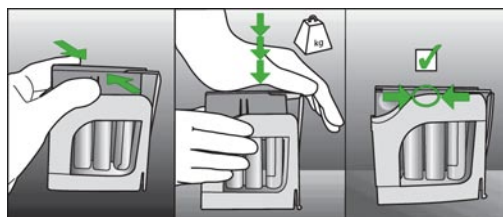
Preparação do cartucho de reagente

Na primeira vez que utilizar um cartucho de reagente, deve furar os selos de conservação nos tubos de reagente e misturar as esferas revestidas ENA7 com o tampão de ressuspensão. Nota: não utilize o cartucho de reagente se observar quaisquer sinais de danos.

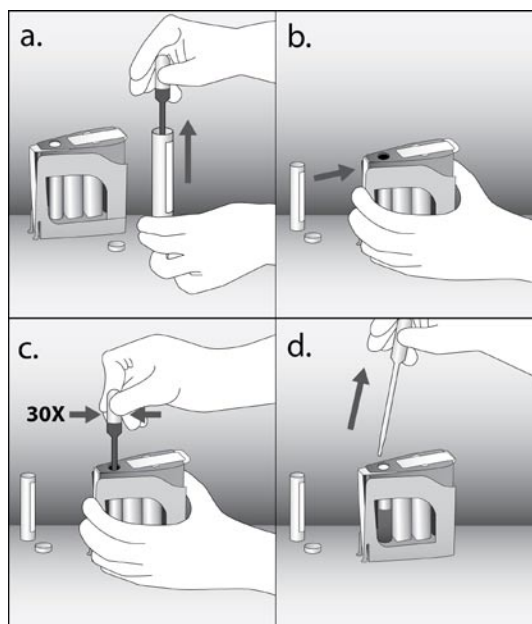
1. Coloque o cartucho de reagente numa superfície sólida. Com uma mão, segure o cartucho de reagente no lugar. Com a outra mão, segure firmemente a patilha vermelha na parte de trás do cartucho de reagente e puxe-a totalmente para fora.



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. Ressuspense 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 tampa do cartucho de reagente para a posição de aberta, pressionando suavemente o lado estreito do cartucho de reagente e mantenha-a nesta posição. Transfira analiticamente todo o conteúdo do frasco para o tubo do reagente com esferas, através de um único orifício na parte superior do cartucho de reagente.
 - c. Misture o conteúdo do tubo do reagente com esferas 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 ressuspensão, 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. Cada lote novo de cartucho de reagente tem de ser calibrado antes da primeira utilização. O software não permitirá utilizar um lote novo até que seja calibrado.
2. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® ENA7 Calibradores 701256** 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 da 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 ENA7 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 começar o ensaio.

Controlo de qualidade

Os Controlos QUANTA Flash ENA7 (vendidos em separado - INOVA Número de Item 701257) contêm os Controlos ENA7 Positivos e Negativos. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® ENA7 Controlos 701257** 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 ENA7 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 ENA7, de acordo com a tabela abaixo.

<u>Reatividade</u>	<u>UQ</u>
Negativa	<20
Positiva	≥20

A reatividade em UQ está diretamente relacionada com o título do autoanticorpo na amostra do doente. Os aumentos e as 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 situa-se entre 3,6 UQ e 429,4 UQ. Se o resultado de um doente for inferior a 3,6 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como "<3,6 UQ". Visto ser inferior a 20 UQ, considera-se um resultado negativo. Se o resultado de um doente for superior a 429,4 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como ">429,4 UQ". Este é considerado um resultado positivo. O software BIO-FLASH disponibiliza uma opção de Novo teste automático. Se esta opção for selecionada, o instrumento voltará a testar automaticamente qualquer amostra que tenha um resultado >429,4 UQ, diluindo-a ainda 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 é aconselhado a verificar o intervalo de referência fornecido pelo fabricante e pode estabelecer o seu próprio intervalo normal baseando-se nos seus próprios controlos e na população de doentes, de acordo com os procedimentos estabelecidos pelo mesmo.

Sugere-se que os resultados apresentados pelo laboratório incluam a declaração: "Obtiveram-se os resultados seguintes com o imunoensaio quimioluminescente QUANTA Flash ENA7 da INOVA. Os 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 LES, ES ou MAI são positivos para anticorpos anti-ENA7.
2. Os resultados deste ensaio devem ser utilizados em conjunto com as conclusões clínicas e outros testes serológicos.
3. A ressuspensão inadequada das esferas revestidas ENA7 pode apresentar valores inferiores aos de uma ressuspensão correta.
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 196 dadores de sangue aparentemente saudáveis. A média foi 9,1 UQ e o Intervalo de Confiança de 95% foi calculado como 5,7 – 12,5 UQ.

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras para a análise de comparação do método incluíram 921 amostras dos estudos de validação clínica. Testaram-se estas amostras no QUANTA Flash ENA7 e no dispositivo implicado ELISA.

Comparação do Método (N=921)		ENA6 ELISA			Concordância de Percentagem (Intervalo de segurança de 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash® ENA7 IEQ	Positivo	234	31*	265	Concordância Pos. = 90,7% (86,5-93,9%)
	Negativo	24 [#]	632	656	Concordância Neg. = 95,3% (93,4-96,8%)
	Total	258	663	921	Concordância Total = 94,0% (92,3-95,5%)
[*] 10 LES, 1 MAI, 1 DTC indiferenciada, 2 AR, 6 cirrose biliar primária, 1 doença inflamatória intestinal, 7 indivíduos saudáveis e 3 com outras patologias [#] 8 LES, 2 ES, 1 AR, 2 cirrose biliar primária, 1 doença inflamatória intestinal, 6 indivíduos saudáveis e 4 com outras patologias					

Sensibilidade e especificidade clínicas

O estudo de validação clínica incluiu 132 pacientes com artrite reumatoide (AR), 252 com lúpus eritematoso sistémico (LES), 50 com doença inflamatória intestinal, 64 com esclerose sistémica (ES), 52 com cirrose biliar primária e 141 indivíduos com outras doenças. Incluíram-se ainda amostras de 196 dadores de sangue normais. As sensibilidades e as especificidades foram calculadas para LES e ES face a indivíduos saudáveis. Abaixo encontram-se os resultados destes testes:

Coorte	Sensibilidade (95% IS)	Especificidade (95% IS)
Esclerose sistémica (n=64)	54,7% (41,7–67,2%)	94,9% (90,8-97,5%)
Lúpus eritematoso sistémico (n=252)	62,3% (56,7-67,8%)	94,9% (90,8-97,5%)

IS = Intervalo de Segurança

Precisão e reprodutibilidade

Avaliou-se a precisão do ensaio QUANTA Flash ENA7 testando 8 doentes de acordo com o CLSI EP5-A2 e, abaixo, encontram-se os dados resumidos:

			Durante os Testes		Entre Dias		Entre Testes		Total	
Amostra	N	Média (UQ)	DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV	DP	% CV
Dt 1	80	7,9	0,3	3,2%	0,3	3,8%	0,0	0,0%	0,4	4,9%
Dt 2	80	19,1	0,4	2,2%	1,2	6,3%	0,5	2,6%	1,4	7,1%
Dt 3	80	19,8	0,4	1,8%	0,7	3,3%	0,3	1,5%	0,8	4,1%
Dt 4	80	30,1	1,2	4,1%	1,4	4,8%	0,7	2,2%	2,0	6,7%
Dt 5	80	42,9	1,1	2,6%	1,3	3,1%	0,0	0,0%	1,7	4,0%
Dt 6	80	100,1	3,2	4,3%	2,9	3,7%	0,0	0,0%	4,3	5,7%
Dt 7	80	207,0	5,1	2,5%	5,3	2,6%	3,9	1,9%	8,4	4,0%
Dt 8	80	386,8	11,9	3,1%	10,8	2,8%	7,4	1,9%	17,7	4,6%

Limites de detecção e intervalo passível de relatório

De acordo com a CLSI EP17-A, o limite de detecção inferior deste ensaio é aproximadamente 733 URL. O limite de detecção superior é cerca de 840 000 ULR. O intervalo passível de relatório situa-se entre 3,6 UQ e 429,4 UQ.

Calibradores

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

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

Utilização prevista

Os Calibradores QUANTA Flash ENA7 destinam-se a utilização com o imunoensaio quimioluminescente (IEQ) QUANTA Flash ENA7 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 ENA7 em soro.

Resumo e princípios do procedimento

O IEQ QUANTA Flash ENA7 utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que está armazenada no código de barras do cartucho de reagente. Os Calibradores QUANTA Flash ENA7 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 IEQ QUANTA Flash ENA7. Antes da atribuição do valor, testam-se os calibradores em vários instrumentos com diversos lotes de reagentes.

Reagentes

1. Calibrador 1 QUANTA Flash ENA7 : dois (2) tubos marcados com código de barras, com 0,7 mL de reagente pré-diluído, pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos humanos para ENA7 em solução tampão, estabilizadores proteicos e conservantes.
2. Calibrador 2 QUANTA Flash ENA7 : dois (2) tubos marcados com código de barras, com 0,7 mL de reagente pré-diluído, pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos humanos para ENA7 em solução tampão, estabilizadores proteicos e conservantes.

Advertências

1. Os calibradores contêm um químico (0,02% cloranfenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. A azida de sódio é venenosa e pode ser tóxica se for ingerida ou absorvida pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de canalizações de chumbo ou cobre 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 acumulação de azida.
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 VIH, HBsAg e VHC. Contudo, nenhum teste pode garantir com certeza absoluta a ausência de VIH, VHB, VHC ou outros agentes infecciosos. Logo, devem manipular-se os Calibradores QUANTA Flash ENA7 como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.⁴
4. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
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 ENA7 destinam-se a utilização com o ensaio QUANTA Flash ENA7.
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. Os 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. Cada lote novo de cartucho de reagente tem de ser calibrado antes da primeira utilização. O software não permitirá utilizar um 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 do 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 ENA7 (vendidos separadamente – número de peça 701257) após a calibração de um lote de cartucho de reagente.

Rastreabilidade

Não está disponível soro de referência internacional para anticorpos anti-ENA que permita a normalização de ensaios de anticorpo anti-ENA7. Em vez deste, testou-se o soro de referência do Center of Disease Control and Prevention para anticorpos anti-ENA e determinaram-se as concentrações indicadas abaixo.

N.º IS	Valor UQ	Descrição
IS2073	>429,4	ANA por fluorescência (padrão salpicado); anti-SS-B/La
IS2074	>429,4	ANA por fluorescência (padrão salpicado)
IS2075	>429,4	Anti-U1 RNP (RNP nuclear)
IS2076	>429,4	Anti-Sm
IS2105	412,0	Anti-SS-A/Ro
IS2135	366,5	Anti-Scl-70 (ADN topoisomerase I)
IS2187	349,3	Anti-Jo1 (histidil-tRNA sintetase)

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*

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

Utilização prevista

Utilizam-se os Controlos QUANTA Flash ENA7 para controlo da qualidade do kit de imunoensaio quimioluminescente (IEQ) QUANTA Flash ENA7 testado num instrumento BIO-FLASH.

Resumo e princípios do procedimento

Os Controlos QUANTA Flash ENA7 são constituídos por um Controlo Negativo e um Controlo Positivo. Cada um contém uma quantidade diferente de anticorpos ao ENA7. 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 ENA7 : dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 mL de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos humanos para ENA7 em solução tampão, estabilizadores e conservantes.
2. Controlo Positivo do QUANTA Flash ENA7 : dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 mL de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos humanos para ENA7 em solução tampão, estabilizadores e conservantes.

Advertências

1. Os controlos contêm um químico (0,02% cloranfenicol) conhecido no Estado da Califórnia por causar cancro.
2. A azida de sódio é utilizada como conservante. A azida de sódio é venenosa e pode ser tóxica se for ingerida ou absorvida pela pele ou pelos olhos. A azida de sódio pode reagir com componentes de canalizações de chumbo ou cobre 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 acumulação de azida.
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 VIH, HBsAg e VHC. Contudo, nenhum teste pode garantir com certeza absoluta a ausência de VIH, VHB, VHC ou outros agentes infecciosos. Logo, devem manipular-se os Controlos QUANTA Flash ENA7 como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.⁴
4. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
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 ENA7 destinam-se a utilização com o ensaio QUANTA Flash ENA7.
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. Os 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 horas e meia, 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 ENA7

1. Antes de utilizar Controlos QUANTA Flash ENA7 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 e 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 ENA7 da lista e clique em **Add**. Por fim, introduza a dose alvo e o 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 ENA7 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 ENA7 na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material do controlo adequado à direita (“ENA7NN” para o Controlo Negativo ou “ENA7P” 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 ENA7 da lista e clique em **Add**. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Recomenda-se a utilização dos Controlos QUANTA Flash ENA7 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 do 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-ENA que permita a normalização de ensaios de anticorpo anti-ENA7. Em vez deste, testou-se o soro de referência do Center of Disease Control and Prevention para anticorpos anti-ENA e determinaram-se as concentrações indicadas abaixo.

N.º IS	Valor UQ	Descrição
IS2073	>429,4	ANA por fluorescência (padrão salpicado); anti-SS-B/La
IS2074	>429,4	ANA por fluorescência (padrão salpicado)
IS2075	>429,4	Anti-U1 RNP (RNP nuclear)
IS2076	>429,4	Anti-Sm
IS2105	412,0	Anti-SS-A/Ro
IS2135	366,5	Anti-Scl-70 (ADN topoisomerase I)
IS2187	349,3	Anti-Jo1 (histidil-tRNA sintetase)

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. Mahler M, Fritzler MJ: **Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases.** *Ann N Y Acad Sci* 2010; **1183**:267-287.
2. Copple SS, Sawitzke AD, Wilson AM, Tebo AE, Hill HR et al.: **Enzyme-linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies: a statistical analysis.** *Am J Clin Pathol* 2011; **135**:678-684.
3. Fritzler MJ. **The antinuclear antibody test: last or lasting gasp?** *Arthritis Rheum* 2011, 63:19-22.
4. **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 catálogo



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

621255PRT

Outubro 2012

Revisão 1

