

Reagents

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

Aplicação diagnóstica

Imunoensaio quimioluminescente totalmente automatizado para a medição semi-quantitativa de anticorpos anti- β 2 glicoproteína-1 (β 2GP1) IgM em plasma humano e soro citrado no instrumento BIO-FLASH® como ajuda ao diagnóstico de distúrbios tromboticos relacionados com síndrome antifosfolípidos (APS) primária e secundária, quando utilizado em conjunto com outras conclusões laboratoriais e clínicas.

Resumo e Explicação do Teste

Os anticorpos anti- β 2 glicoproteína-1 (β 2GP1) pertencem a uma família heterogénea de anticorpos anti-fosfolípidos (aPL), que são autoanticorpos dirigidos contra fosfolípidos aniónicos ou complexos proteínas-fosfolípidos. Níveis persistentemente elevados de anticorpos aPL estão associados a um risco mais elevado de trombose vascular e complicações obstétricas. Esta associação é conhecida como síndrome Anti-fosfolípida (APS), classificação proposta por Harris em 1987¹. Os ensaios para a determinação de anticorpos anti- β 2GP1 IgM e IgG, anti-cardiolipina (aCL) IgG e IgM e anticoagulantes de Lúpus são os ensaios aPL definidos nos critérios de classificação revista determinados pelo Comité Internacional para o diagnóstico de APS na reunião realizada em 2006 em Sidnei ,Austrália^{2,3}. Tanto o ensaio anti- β 2GP1 como o aCL contêm β 2 glicoproteína-1 (β 2GP1) humana na fase sólida.

β 2 glicoproteína-1, também denominada apolipoproteína H, é uma glicoproteína 44 kDA com 5 domínios que se encontra no plasma. O quinto domínio contém um conjunto de aminoácidos com carga positiva que é responsável pela ligação dos fosfolípidos aniónicos. O mecanismo através do qual os anticorpos anti-fosfolípidos anti- β 2GP1 e aCL reconhecem a β 2GP1 não é claro. Foram propostas duas teorias principais; a primeira conhecida como “teoria de dimerização” considera que um anticorpo tem de ligar duas moléculas β 2GP1 para obter maior avidéz⁴, e a segunda “teoria do epítipo críptico” considera que o epítipo que se liga a anti-fosfolípido anti- β 2GP1 e aCL só se expõe quando a β 2GP1 se liga a uma superfície com carga negativa ou moléculas negativas como, por exemplo, a cardiolipina^{5,6}. Este epítipo está localizado no domínio I⁷.

Princípio do procedimento

O ensaio QUANTA Flash β 2 glicoproteína-1 IgM é um imunoensaio quimioluminescente de dois passos que consiste de partículas magnéticas revestidas com β 2GP1 humana purificada que capturam, se estiverem presentes, anticorpos anti-fosfolípidos anti- β 2GP1 na amostra. Após a incubação, separação magnética e um passo de lavagem, é adicionado um marcador que consiste num anticorpo IgM anti-humano com denominação isoluminol e pode ligar-se com o anti- β 2GP1 IgM nas partículas. Após uma segunda incubação, separação magnética e passo de lavagem, são adicionados os reagentes que activam a reacção luminescente e a luz emitida é medida como unidades de luz relativas (ULRs) através do sistema óptico BIO-FLASH. As ULRs são directamente proporcionais à concentração anti- β 2GP1 IgM na amostra.

O ensaio QUANTA Flash β 2GP1 IgM utiliza um método de redução de dados a Curva logística de 4 parâmetros (4PLC) para gerar uma Curva Modelo. A Curva Modelo é predefinida e dependente do lote e é armazenada no instrumento através do código de barras do cartucho. Com a medição dos calibradores, a Curva Modelo predefinida é transformada numa nova Curva de Trabalho 4PLC específica. Os valores de concentração dos calibradores estão incluídos nos códigos de barras do tubo do calibrador.

Reagentes

O kit β 2GP1 IgM consiste de:

1. O cartucho de reagente QUANTA Flash β 2GP1 IgM contém os reagentes seguintes. Os reagentes encontram-se em tampão fosfato ou borato contendo albumina de soro de bovino, β 2GP1 humana, IgM monoclonal de rato, estabilizadores e conservante:
 - a. 1 frasco de suspensão de partículas magnéticas revestidas com β 2GP1 humana purificada.
 - b. 1 frasco de tampão do ensaio.
 - c. 1 frasco de marcador consistindo de anticorpos IgM anti-humanos rotulados com isoluminol.
 - d. 1 frasco de diluente da amostra utilizado para a pré-diluição regular da amostra e diluição normal de novos testes.
2. Frasco de Calibrador 1 de β 2GP1 IgM contendo: tubo de 1 x 1 ml com código de barras de uma solução com anti- β 2GP1 IgM num tampão fosfato contendo albumina de soro de bovino, estabilizadores e conservante.
3. Frasco de calibrador 2 de β 2GP1 IgM contendo: tubo de 1 x 1 ml com código de barras de uma solução com anti- β 2GP1 IgM num tampão fosfato contendo albumina de soro de bovino, estabilizadores e conservante.

Os calibradores são dependentes do lote e não podem ser utilizados com outros lotes de reagentes.

Advertências e Precauções

1. O material derivado de humanos neste produto foi testado com métodos aprovados pela FDA e considerado não reactivo à presença de antigénio de superfície da Hepatite B (HBsAg), anticorpos de anti-HCV e HIV 1/2. Manipular como potencialmente infeccioso⁸.
2. Todos os reagentes contêm menos de 0,1% de azida de sódio que pode formar azidas explosivas nas canalizações de metal. Utilize os procedimentos de eliminação adequados.
3. Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não despejar para o esgoto (S 29). Utilizar vestuário de protecção adequado (S 36).
4. Nocivo por ingestão (R 22). No caso de ingestão, procurar ajuda médica (S 46).
5. Este produto destina-se à utilização para diagnóstico *in vitro*.

Precauções particulares de conservação

Os reagentes e calibradores não abertos são estáveis até à data de validade mostrada no cartucho e rótulos dos tubos quando guardados a 2-8°C. Não congelar.

1. Devem guardar-se no instrumento os cartuchos de reagente abertos. O software BIO-FLASH monitoriza as datas de validade (durante a utilização) bem como a data de validade do lote do reagente (período de armazenamento) do cartucho do reagente. O sistema não permite a utilização de um cartucho que tenha expirado.
2. Calibrador 1 e 2 β 2GP1 IgM - Estabilidade após a abertura na placa do sistema BIO-FLASH durante 3,5 horas. Para a estabilidade ideal, retire os calibradores do sistema imediatamente após a calibração e guarde-os a 2-8°C tapados no frasco original.

Colheita da amostra

Plasma: Nove partes de sangue venoso de colheita fresca recolhidas numa parte de citrato de trisódio. Consulte o documento H21-A5 da CLSI para obter mais instruções sobre a colheita, manuseamento e armazenamento da amostra⁹. Descongele rapidamente as amostras congeladas para 37 °C. Depois da descongelação, o ensaio deve ser realizado no prazo de 2 horas.

Soro: Após a colheita, o soro deve ser separado do coágulo. Siga as recomendações do Documento H18-A4 no que respeita as condições de armazenamento das amostras¹⁰.

Centrifugue as amostras que contenham partículas visíveis antes do teste.

Procedimento

Materiais fornecidos

- 1 Cartucho de Reagente QUANTA Flash β 2GP1 IgM
- 1 Calibrador 1 QUANTA Flash β 2GP1 IgM
- 1 Calibrador 2 QUANTA Flash β 2GP1 IgM

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)

Controlos QUANTA Flash β 2GP1 IgM (Número de Peça: 701252)

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-o adequadamente. 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**.

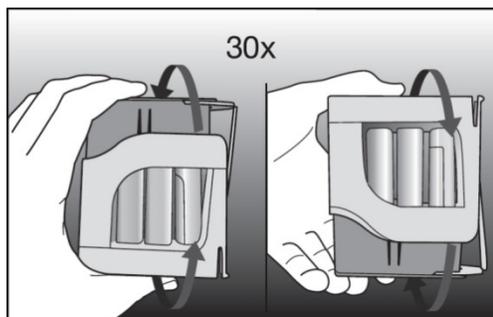
Método

Preparação do cartucho de reagente

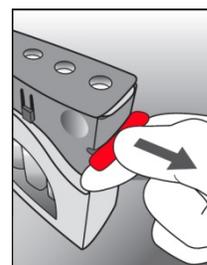
Da primeira vez que utilizar o cartucho do reagente, tem de seguir os passos seguintes para instalar correctamente o cartucho no instrumento BIO-FLASH. Nota: Não utilize o cartucho de reagente se observar quaisquer sinais de danos.

Cartucho QUANTA Flash β 2GP1 IgM: As micropartículas assentam durante o envio e armazenamento e necessitam de agitação para voltarem a ficar em suspensão.

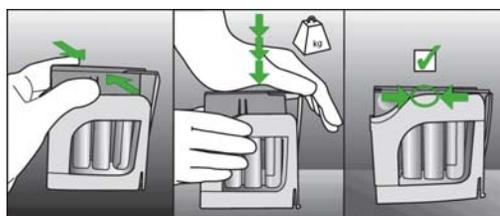
1. Da primeira vez que utilizar o cartucho, inverta suavemente o cartucho 30 vezes, evitando a formação de espuma. Verifique a re-suspensão completa das micropartículas. Se as micropartículas não estiverem totalmente em suspensão, continue a inverter o cartucho até que as micropartículas estejam completamente 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 para baixo na parte superior do cartucho de reagente até encaixar numa posição bloqueada. As patilhas deverão deixar de estar visíveis. NÃO VIRE O CARTUCHO ABERTO.



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

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. Consulte o manual do operador do BIO-FLASH para obter instruções completas do procedimento do ensaio.
2. Os calibradores QUANTA Flash β 2GP1 IgM têm de ser misturados pela inversão suave várias vezes antes da utilização para assegurar homogeneidade do calibrador. Evitar a formação de espuma.
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 IgM_β2GP1 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 β2GP1 IgM (vendidos em separado - INOVA Número de Item 701252) contêm os Controlos β2GP1 IgM Altos e Baixos. Consulte o Folheto de Instruções **QUANTA Flash® β2GP1 IgM Controls** 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. Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio desvio médio e padrão e deve estabelecer um programa de controlo de qualidade para verificar os testes de laboratório. Recomenda-se que sejam executados os controlos uma vez por dia a cada 8 horas quando o ensaio é utilizado. Consulte Westgard *et al* para identificação e resolução de situações fora de controlo¹².

Rastreabilidade

Os valores indicados foram determinados por vários testes no sistema BIO-FLASH utilizando lotes específicos de reagentes e com uma norma interna da casa. Seguindo as recomendações do Comité Internacional para o diagnóstico de APS na reunião realizada em Sidnei², as unidades da norma interna da casa dos anticorpos β2GP1 IgM foram co-relacionados com o anticorpo monoclonal EY2C9 de referência¹³.

Matriz da amostra

Foram analisadas 48 amostras de plasma citrado/soro em pares com o ensaio β2GP1 IgM. Os valores de concentração foram comparados através da regressão Passing e Bablok utilizando os valores da amostra de plasma como referência (eixo X) e o coeficiente de correlação foi calculado com a correlação de Pearson. A inclinação e intercepção foram de, respectivamente, 0,99 e 0,02 e a correlação (r) 0,996.

Cálculo dos resultados

Para cada lote novo de QUANTA Flash β2GP1 IgG produz-se uma Curva Modelo de cinco pontas. Esta curva logística de quatro parâmetros está codificada no código de barras de cada cartucho de reagente. Assim que o cartucho de reagente tenha sido calibrado, a curva de trabalho específica da máquina será utilizada para converter unidades de luz relativas (ULRs) em unidades quimioluminescentes (UQ).

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 β2GP1 IgM. Valores obtidos com métodos de ensaio de diferentes fabricantes não podem ser comparados. Nem sempre a magnitude dos níveis de autoanticorpo IgM descritos não pode ser sempre correlacionada com um título final”.

Note: O BIO-FLASH contabiliza automaticamente as diferenças na diluição de amostras de plasma e de soro. Os valores reportados da amostra de soro não necessitam de ser corrigidos por nenhum factor. Consulte o manual do operador BIO-FLASH para mais informações.

Limitações do procedimento

Não pode ser realizado um diagnóstico clínico definitivo com base num resultado positivo β 2GP1 IgM. O historial do doente e as conclusões clínicas também têm de ser consideradas. Quando é encontrado um resultado negativo β 2GP1 IgM na presença de indicações clínicas, devem ser realizados outros testes aPL, de acordo com a recomendação dos critérios de classificação revistos, determinados pelo Comité Internacional para o diagnóstico de APS na reunião realizada em 2006².

Os resultados β 2GP1 IgM no BIO-FLASH não são afectados pela hemoglobina até 500 mg/dl, bilirrubina até 18 mg/dl, triglicéridos até 1250 mg/dl, heparina (LMW e não fraccionada) até 2 UI/ml e factor reumatóide (FR) até 500 UI/ml.

Num estudo de reactividade cruzada, 10 amostras positivas, de cada uma das seguintes condições, foram testadas com o ensaio QUANTA Flash β 2GP1 IgM: factor reumatóide, anticorpos anti-nucleares (ANA) e sífilis (positivas a teste reagina plasmática rápida, RPR).

Este ensaio não foi validado em populações pediátricas.

Grupo de doentes	N	n (positivo)	% IgM anti- β 2GP1 positivo
FR	10	0	0,0%
ANA	10	1	10,0%
RPR	10	0	0,0%

Valores esperados

Foi realizado um estudo de intervalo normal utilizando amostras de plasma citrado de banco de sangue de dadores adultos saudáveis com reagentes e calibradores QUANTA Flash β 2GP1 IgM Seguindo as recomendações do Comité Internacional em Sidnei², o limite para anticorpos β 2GP1 IgM positivo foi estabelecido no 99º percentil.

Sistema	N	Limite superior do intervalo normal (UQ)
BIO-FLASH	250	20,0

Devido a muita variáveis que podem afectar os resultados, cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo normal.

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras utilizadas no estudo de desempenho clínico que estavam entre os intervalos de teste dos métodos comparados medidos utilizando um estudo de comparação de métodos com um ensaio ELISA comercialmente disponível aprovado pela FDA. Percentagem Positivo, Negativo e Concordância global:

Comparação do método (N = 205)		Ensaio ELISA			Concordância de percentagem (Intervalo de segurança de 95%)
		Positivo	Negativo	Total	
QUANTA Flash® β 2GP1 IgM CIA	Positivo	30	5	35	Concordância Pos. = 63,3% (48,5%-77,3%)
	Negativo	17	153	170	Concordância Neg. = 96,8% (92,8%-99,0%)
	Total	47	158	205	Concordância Total = 89,3% (84,2%-93,2%)

Os resultados de precisão, correlação e clínicos do estudo foram obtidos utilizando lotes específicos de reagentes e controlos.

Sensibilidade e especificidade clínica

Foi realizado um estudo de resultados em 321 plasmas citrados congelados. Estes plasmas pertenciam a 6 grupos diferentes, incluindo indivíduos seleccionados diagnosticados com APS primária (PAPS), APS secundária (SAPS), lúpus eritematoso sistémico (SLE), mas não APS e SLE de acordo com os testes de objectivo normal. O quinto grupo era de doentes com distúrbios cardiovasculares, mas não classificados nos quatro grupos anteriores. Foi também incluído um grupo de pessoas aparentemente saudáveis. Os resultados resumidos abaixo baseiam-se num cut-off de 20 UQ:

Grupo de doentes	N	n (positivo)	% Positivo
PAPS	23	7	30,4%
SAPS	69	20	29,0%
SLE	115	10	8,7%
SLE	5	0	0,0%
Outros	6	1	16,7%
Normais	103	0	0,0%

Considerando resultados positivos nos grupos de doentes com PAPS e SAPS como positivos verdadeiros, a percentagem de sensibilidade clínica, especificidade e concordância global foram:

Sistema	N	Sensibilidade (95% IC)	Especificidade (95% IC)	% Concordância (95% IC)
BIO-FLASH	321	29,3% (20,3%-39,8%)	95,2% (91,6%-97,6%)	76,3% (71,3%-80,9%)

Precisão e reprodutibilidade

Todos os dados apresentados foram obtidos utilizando amostras de plasma citrado. A precisão dentro do teste e total (teste a teste e dia a dia) foi avaliada durante vários testes.

BIO-FLASH	Média (UQ)	CV% (Dentro do teste)	CV% (Total)
Controlo baixo β 2GP1 IgM	4,32	3,4%	6,4%
Controlo alto β 2GP1 IgM	63,0	2,4%	4,3%
β 2GP1 IgM plasma amostra A	11,0	3,6%	5,8%
β 2GP1 IgM plasma amostra B	13,6	4,5%	8,3%
β 2GP1 IgM plasma amostra C	16,3	2,7%	6,6%
β 2GP1 IgM plasma amostra D	91,9	2,4%	5,7%
β 2GP1 IgM plasma amostra E	302	3,0%	5,2%
β 2GP1 IgM plasma amostra F	510	4,1%	6,0%

Limites de detecção; intervalos lineares e passíveis de relatório

Limite inferior de detecção:

Sistema

BIO-FLASH 1,1 UQ

Linearidade:

Sistema

BIO-FLASH 1,1 - 841 UQ

Quando a capacidade de novo teste do instrumento é activada, o instrumento realiza uma diluição automática e corrige o resultado final em relação ao factor de diluição (20x), aumentando assim o intervalo de teste para 16820 UQ.

O ensaio não é afectado pelo efeito prozona. O protocolo do ensaio tem um passo de lavagem após a incubação da amostra que evita o efeito prozona. As amostras acima de 841 UQ testadas durante o estudo de desempenho clínico activam o novo teste.

Controls

Para utilização em diagnóstico *In Vitro*

Aplicação diagnóstica

Os Controlos QUANTA Flash β 2GP1 IgM destinam-se a efeitos de controlo de qualidade do ensaio QUANTA Flash β 2GP1 IgM realizado no instrumento BIO-FLASH®.

Resumo e princípios do procedimento

Os anticorpos anti- β 2 glicoproteína-1 (β 2GP1) pertencem a uma família heterogénea de anticorpos anti-fosfolípidos (aPL), que são autoanticorpos dirigidos contra fosfolípidos aniónicos ou complexos proteínas-fosfolípidos. Níveis persistentemente elevados de anticorpos aPL estão associados a um risco mais elevado de trombose vascular e complicações obstétricas. Esta associação é conhecida como síndrome anti-fosfolípida (APS), classificação proposta por Harris em 1987¹. Os ensaios para a determinação de anticorpos anti- β 2GP1 IgM e IgG, anti-cardiolipina (aCL) IgG e IgM e anticoagulantes de Lúpus são os ensaios aPL definidos nos critérios de classificação revista determinados pelo Comité Internacional para o diagnóstico de APS na reunião realizada em 2006 em Sidnei ,Austrália^{2,3}. Os controlos Altos e Baixos β 2GP1 IgM são preparados através de um processo dedicado e contêm diferentes concentrações de anticorpos anti- β 2 glicoproteína- 1 IgM humana.

Controlo baixo β 2GP1 IgM: Controlo destinado à avaliação de precisão e exactidão do ensaio em níveis normais ou em redor do cut-off anti- β 2 glicoproteína-1 IgM.

Controlo alto β 2 GP1 IgM: Controlo destinado à avaliação de precisão e exactidão do ensaio em níveis normais anti- β 2GP1 IgM. É recomendada a utilização de ambos os controlos para um programa completo de controlo de qualidade.

Reagentes

1. Controlo Baixo QUANTA Flash β 2GP1 IgM 3 x 1 ml tubos com código de barras de uma solução com anti- β 2GP1 IgM em tampão fosfato contendo albumina de soro de bovino , estabilizadores e conservante.
2. Controlo Alto QUANTA Flash β 2GP1 IgM 3 x 1 ml tubos com código de barras de uma solução com anti- β 2GP1 IgM em tampão fosfato contendo albumina de soro de bovino, estabilizadores e conservante.

Advertências e precauções

O material derivado de humanos neste produto foi testado com métodos aprovados pela FDA e considerado não reactivos à presença de antigénio de superfície da Hepatite B (HBsAg), anticorpos de anti-HCV e HIV 1/2. Manipular como potencialmente infeccioso⁸.

Evitar o contacto com a pele e os olhos (S 24/25). Não despejar para o esgoto (S 29). Utilizar vestuário de protecção adequado (S 36).

Este produto destina-se à Utilização para Diagnóstico *In Vitro* .

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. 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 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 o controlo das amostras e guarde-os a 2-8 °C tapados no frasco original.

Procedimento

Para criar novos materiais de CQ para o Ensaio β 2GP1 IgM

1. Antes de utilizar Controlos QUANTA Flash β 2GP1 IgM pela primeira vez no instrumento, tem de introduzir no software o nome, o lote, as réplicas, data de validade, o valor (ou dose) e as informações de DP alvo.
2. A partir do ecrã **Resumo do Instrumento**, clique no botão de seta **Escolher mais opções – Ctrl-M (▼)**. 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. Selecione o ensaio β 2GP1 IgM da lista e clique em **Adicionar**. Por fim, introduza na dose alvo e DP alvo. Clique em **Guardar**. 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 β 2GP1 IgM pela primeira vez, tem de introduzir no software o nome, 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 (▼)**. Selecione **QC Ctrl-F2**. Realce o ensaio IgM_ β 2GP1 na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material de controlo adequado à direita (" β 2GP1ML" que corresponde ao controlo baixo ou " β 2GP1MH" que corresponde ao controlo alto). 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 nome, o número do lote, a data de validade, a concentração alvo e o DP alvo. Se necessário, clique no botão **Adicionar Ensaio**. Na nova janela, certifique-se de que a caixa **Mostrar todos os ensaios** está marcada. Selecione o ensaio β 2GP1 IgM da lista e clique em **Adicionar**. Clique em **Guardar**. Execute este processo para ambos os controlos.
4. Recomenda-se que os controlos QUANTA Flash β 2GP1 IgM sejam utilizados uma vez em cada turno de 8 horas quando o ensaio for utilizado.
5. 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

Os valores indicados foram determinados por vários testes no sistema BIO-FLASH utilizando lotes específicos de reagentes e com uma norma interna da casa. Os resultados anti- β 2GP1 IgM foram indicados em UQ (Unidades Quimioluminescentes). Estas unidades foram estabelecidas atribuindo 20 UQ à resposta do limite superior do intervalo normal (ULNR) de 250 plasmas citrados de um banco de sangue (99º percentil). Seguindo as recomendações do Comité Internacional para o diagnóstico de APS na reunião realizada em Sidnei², as unidades da norma interna da casa dos anticorpos anti- β 2GP1 IgM foram co-relacionados com o anticorpo monoclonal EY2C9 de referência¹³.

Limitações

Estes produtos foram concebidos para serem usados como controlos para monitorizar o desempenho do ensaio QUANTA Flash β 2GP1 IgM. Estes controlos estão sujeitos às limitações do sistema de ensaio. Os desvios podem indicar possíveis problemas com um ou mais componentes no sistema de teste.

Referências

1. Harris EN: **Syndrome in the black swan**. *Br.J. Rheumatol* 1987, **26**:324-326.
2. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, Derksen RH, de Groot PG, Koike T, Meroni PL, Reber G, Shoenfeld Y, Tincani A, Vlachoyiannopoulos PG, Krilis SA : **International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS)**. *J Thromb Haemost* 2006, **4**:295-306.
3. Swadźba J, Iwaniec T, Szczeklik A, Musiał J: **Revised classification criteria for antiphospholipid syndrome and the thrombotic risk in patients with autoimmune diseases**. *J Thromb Haemost* 2007, **5**:1883-1889.
4. Lutters BC, Meijers JC, Derksen RH, Arnout J, de Groot PG: **Dimers of beta 2-glycoprotein I mimic the in vitro effects of beta 2-glycoprotein-anti-beta 2-glycoprotein antibody complexes**. *J Biol Chem* 2001, **276**:3060-3067.
5. Kuwana M, Matsuura E, Kobayashi K, Okazaki Y, Kaburaki J, Ikeda Y, Kawakami Y: **Binding of β 2-glycoprotein-I to anionic phospholipids facilitates processing and presentation of a cryptic epitope that activates pathogenic autoreactive T-cells**. *Blood* 2005, **105**:1552-1557.
6. Wang SX, Sun YT, Sui SF: **Membrane-induced conformational change in human apolipoprotein H**. *Biochem J* 2000, **348**:103-106.
7. de Laat B, Derksen RHW, van Lummel M, Pennings MTT, de Groot PG: **Pathogenic anti- β 2-glycoprotein-I antibodies recognize domain I of β 2-glycoprotein-I only after a conformational change**. *Blood* 2006, **107**:1916-1924.
8. Richmond JY, McKinney RW eds.: *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, 4th Edition; 1999.
9. CLSI: *Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline-Fifth Edition*. CLSI Document H21-A5. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA, 2008.
10. CLSI: *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline-Third Edition*. CLSI Document H18-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA, 2010.
11. Zucker S, Cathey MH, West B: **Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation**. *Am J Clin Pathol* 1970, **53**:924-927.
12. Westgard JO, Barry PL: *Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process*. AACC Press; 1986.
13. Ichicawa K, Khamashta MA, Koike T, Matsuura E, Hughes GR: **β 2 Glycoprotein-I reactivity of monoclonal anticardiolipin antibodies from patients with the antiphospholipid syndrome**. *Arthritis and Rheumatism* 1994, **37**:1453-1461.

Símbolos Utilizados

	Dispositivo médico para diagnóstico <i>In Vitro</i>
	Consultar as instruções de utilização
	Limite de temperatura
	Não reutilizar
	Riscos biológicos
	Código do lote
	Número de referência
	Utilizar até
	Fabricante
	Representante autorizado
	Contém o suficiente para < n > testes
	Controlo
	Calibrador 1
	Calibrador 2
	Reciclar a caixa de papel
	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. © 2014

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) : 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

621250PRT

Fevereiro 2014
Revisão 2

