

Reagentes

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

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

Utilização prevista

O QUANTA Flash Ro52 é um imunoenensaio quimioluminescente para a determinação semiquantitativa de anticorpos anti-Ro52 (SS-A 52) em soro humano. A presença de anticorpos anti-Ro52, em conjunto com descobertas laboratoriais e clínicas, pode ajudar no diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico, síndrome de Sjögren, esclerose sistêmica, polimiosite e dermatomiosite.

Resumo e explicação do teste

Os anticorpos anti-Ro (SS-A), que foram descritos pela primeira vez em lúpus eritematoso sistêmico (LES) e síndrome de Sjögren (SS), são a especificidade de antígenos nucleares extraíveis (ENA) mais prevalente identificada em laboratórios.¹ Foram descritos dois tipos de anticorpos anti-Ro: anti-Ro 52 kDa (SS-A 52) e anti-Ro 60 kDa (SS-A 60), cada um específico de um antígeno diferente. Historicamente, estes autoanticorpos eram considerados um sistema autoanticorpo uniforme. No entanto, estudos recentes apresentaram conclusões de que o Ro60 e o Ro52 não fazem parte de um complexo macromolecular estável e que os anticorpos Ro52 e Ro60 têm associações clínicas diferentes.² O antígeno Ro52 foi identificado recentemente como proteína TRIM21.³

Os autoanticorpos Ro52 estão presentes frequentemente no soro de doentes com SS (40-70 %) ou LES (20-40 %). Além disso, os anticorpos Ro têm uma importância especial no diagnóstico do bloqueio cardíaco congênito. O bloqueio atrioventricular congênito completo e isolado (BACCI) mostra uma estreita ligação com os anticorpos maternos anti-Ro e anti-SS-B (La); os riscos relativos mais elevados de BACCI verificam-se nos bebês de mães com anticorpos contra as proteínas 52-kDa Ro e 48-kDa SS-B.⁴

Os anticorpos contra Ro52 podem passar despercebidos em ensaios sorológicos Ro usados normalmente. De salientar que a reatividade única ao Ro52 ou Ro60 pode ser perdida quando medida com um Ro ELISA clássico baseado numa mistura dos dois antígenos. Aproximadamente 20 % das amostras positivas de Ro52 ou Ro60 podem não ser detetadas utilizando uma mistura dos dois antígenos.^{2,5} Portanto, é importante testar as especificidades em separado dos dois anticorpos.

Apesar de o anti-Ro52 estar mais presente juntamente com o anti-Ro60 em doentes com LES e SS, uma frequência elevada de anti-Ro52 isolado foi descrita em doentes com esclerose sistêmica (ES), polimiosite (PM) e dermatomiosite (DM).⁵⁻⁷ A prevalência de anti-Ro52 em ES e miosite é significativamente mais elevada do que de anti-Ro60. Descobriu-se num estudo que incluía 1010 doentes com ES que a prevalência de anti-Ro52 era de 15-38 %.⁵ Nos subgrupos definidos pela síntese de anti-Ro60 e anti-aminoacil-tRNA, o anti-Ro52 estava presente em 92 % e 100 %, respetivamente. Pode encontrar-se anti-Ro52 (sem anti-Ro60) isolado em até 20-37 % de doentes com miosite. No entanto, em soros de miosite positivos a anti-Jo-1, a frequência dos anticorpos anti-Ro52 foi muito superior (58 %). Além disso, a coexistência de anticorpos anti-Ro52 e anti-Jo-1 parece ser um indicador de doença pulmonar intersticial relativamente grave em doentes com miopatia inflamatória.^{8,9}

Princípios do procedimento

O antigénio Ro52 recombinado purificado está revestido por esferas paramagnéticas, que estão guardadas no cartucho de reagente em condições que conservam o antigénio 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 uma amostra do doente numa tina plástica descartável. Pequenas quantidades de soro diluído do doente, as esferas de Ro52 e o tampão de ensaio são todos combinados numa segunda tina e misturados. Incuba-se esta tina a 37 °C. As esferas são então magnetizadas e lavadas várias vezes. Adiciona-se então à tina o anticorpo IgG anti-humano conjugado de isoluminol e incuba-se a 37 °C. Mais uma vez, as esferas são magnetizadas e lavadas repetidamente. O conjugado de isoluminol produz uma reação luminescente quando se adicionam os reagentes “Ativadores” à tina. A luz produzida a partir desta reação é medida como Unidades Relativas de Luz (URL) pelo sistema ótico BIO-FLASH. As URL são proporcionais à quantidade de conjugado de isoluminol ligado que, por sua vez, é proporcional à quantidade de anticorpos anti-Ro52 ligados ao Ro52 nas esferas.

O ensaio QUANTA Flash Ro52 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 amostra.

Reagentes

1. O cartucho de reagente QUANTA Flash Ro52 contém os reagentes seguintes para 50 determinações:
 - a. Esferas paramagnéticas revestidas de Ro52, 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 – anticorpo IgG anti-humano marcado a isoluminol, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservante.
2. Tampão de ressuspensão, 1 frasco – cor-de-rosa, contendo tampão, estabilizadores proteicos e conservantes.

Advertências

1. O tampão de ensaio contém um químico (0,02 % 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 fornecidos.
4. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Respeitar 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 recomendado do instrumento, 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 24 dias, período após o qual devem ser eliminados. O software BIO-FLASH monitoriza as datas de validade dos cartuchos colocados, bem como dos lotes do cartucho de reagente.

Colheita, preparação e manuseamento de amostras

Este procedimento deve ser efetuado numa amostra de soro. As amostras de soro com contaminação bacteriana, que sofreram tratamento térmico ou contendo partículas visíveis não devem ser utilizadas.

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

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

Procedimento

Materiais Fornecidos

- 1 Cartucho de Reagente QUANTA Flash Ro52
- 1 Tampão de ressuspensão
- 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 QUANTA Flash Ro52 (Número de Peça: 701261)

Controlos QUANTA Flash Ro52 (Número de Peça: 701262)

Utilizar o Analisador Quimioluminescente BIO-FLASH

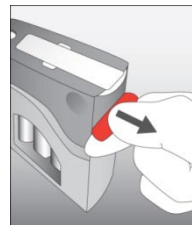
1. Consulte o manual do operador fornecido com o sistema BIO-FLASH relativamente a instruções de funcionamento pormenorizadas do analisador quimioluminescente BIO-FLASH e do software BIO-FLASH. Para informações adicionais e resolução de problemas com este ensaio, contacte a assistência técnica da INOVA Diagnostics, Inc. no endereço ou através do número de telefone indicados no final 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 adequadamente as tinas usadas. 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 com o código de cores correspondente (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 da 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

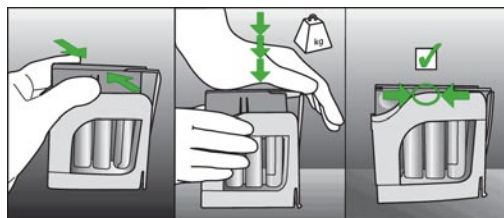
Preparação do cartucho de reagente

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

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. **NÃO VIRE O CARTUCHO ABERTO.**



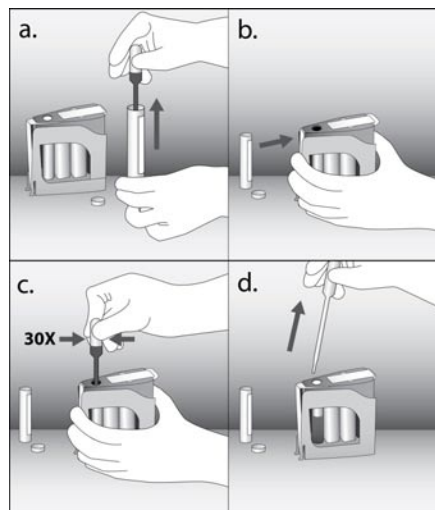
3. Ressuspender as micropartículas de Ro52:

- a. Destape o frasco do tampão de ressuspensão e recolha fluido para a pipeta de transferência fornecida. Será utilizado todo o conteúdo do frasco.

- b. Faça deslizar a porta na 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 de micropartículas, através de um único orifício na parte superior do cartucho de reagente.

- c. Misture os conteúdos do tubo do reagente de micropartículas 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.

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® Ro52 Calibradores 701261** 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 Ro52 a partir do painel do ensaio. Repita estes passos para todas as amostras.
3. Carregue as amostras nas posições selecionadas no rack de amostras e carregue o rack no carrossel de amostras do instrumento.
4. Se todos os materiais necessários estiverem colocados no instrumento, o ícone “iniciar” estará disponível, a verde, na parte superior do ecrã. Pressione o ícone **Start F4** para iniciar o ensaio.

Controlo de qualidade

Os Controlos QUANTA Flash Ro52 (vendidos em separado - INOVA Número de Item 701262) contêm os Controlos Ro52 Positivos e Negativos. Consulte a secção intitulada **QUANTA Flash® Ro52 Controlos 701262** do Folheto de Instruções relativamente a instruções pormenorizadas sobre como introduzir todas as informações necessárias 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 Ro52 cria-se na INOVA uma Curva Modelo de cinco 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, a curva de trabalho específica do instrumento será utilizada para converter as ULR em UQ. Pode então classificar-se a reatividade do anticorpo ao Ro52 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 autoanticorpo 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 2,3 UQ e 1685,3 UQ. Se o resultado de um doente for inferior a 2,3 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “<2,3 UQ”. Visto ser inferior a 20 UQ, considera-se um resultado negativo. Se o resultado de um doente for superior a 1685,3 UQ, então o sistema BIO-FLASH indicá-lo-á como “>1685,3 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 >1685,3 UQ, diluindo-a ainda mais por um fator de 35 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 seguintes resultados com o imunoensaio quimioluminescente INOVA QUANTA Flash Ro52. Os valores obtidos com métodos de ensaio de diferentes fabricantes não podem ser comparados. A magnitude dos níveis de autoanticorpos descritos não pode ser sempre correlacionada com um título final”.

Limitações do procedimento

1. Nem todos os doentes com LES, ES e MAI são positivos para anticorpos Ro52.
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 Ro52 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.

Intervalo de referência

Determinou-se o corte do ensaio usando 155 amostras de indivíduos de referência com 115 dadores de sangue aparentemente saudáveis (15 homens/100 mulheres entre os 19 e 69 anos de idade), 8 amostras de hepatite viral positiva (6 homens/2 mulheres entre os 19 e 54 anos de idade), 5 amostras de sífilis positiva (1 homem/4 mulheres entre os 27 e 57 anos de idade), 5 amostras de VIH positivo (4 homens/1 mulher entre os 28 e 51 anos de idade) e 22 amostras de AR (sem dados disponíveis de sexo e idade). Estabeleceu-se o corte ao percentil >98^o dos resultados obtidos nos indivíduos referência e foi atribuído um valor de 20 UQ.

Valores esperados

O valor esperado na população normal é “negativo”. Analisaram-se níveis de autoanticorpo anti-Ro52 numa coorte de 111 dadores de sangue aparentemente saudáveis (21 homens e 90 mulheres, entre os 17 e 60 anos de idade) utilizando o QUANTA Flash Ro52. Com um corte de 20 UQ, nenhuma das amostras foi positiva no QUANTA Flash Ro52. A concentração média foi 8,3 UQ e os valores variaram entre <2,3 e 19,3 UQ.

Sensibilidade e especificidade clínicas

Utilizou-se um total de 289 amostras no estudo de validação clínica, incluindo 81 de doentes com LES, 24 de doentes com síndrome de Sjögren, 48 de doentes com ES e 40 de doentes com miosite autoimune (MAI). Como controlos, incluímos 50 doentes com artrite reumatoide, 20 doentes com doença autoimune da tiroide, 11 doentes com doença celíaca e 15 doentes com várias doenças infecciosas.

Nas quatro tabelas abaixo calculam-se a sensibilidade clínica e a especificidade para a SS (n=24), LES (n=81), ES (n=48) e MAI (n=40) utilizando a população de controlo (n=96) :

Sensibilidade clínica e especificidade do QUANTA Flash Ro52 na SS:

Análise Clínica n=120		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95 %)
		SS	Não SS	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	14	3	17	Sensibilidade = 58,3% (36,6-77,9%)
	Negativo	10	93	103	Especificidade = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	24	96	120	

Sensibilidade clínica e especificidade do QUANTA Flash Ro52 na LES:

Análise Clínica n=177		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95 %)
		LES	Não LES	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	36	3	39	Sensibilidade = 44,4 % (33,4-55,9 %)
	Negativo	45	93	138	Especificidade = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	81	96	177	

Sensibilidade clínica e especificidade do QUANTA Flash Ro52 na ES:

Análise Clínica n=144		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95 %)
		ES	Não ES	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	6	3	9	Sensibilidade = 12,5 % (4,7-25,2 %)
	Negativo	42	93	135	Especificidade = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	48	96	144	

Sensibilidade clínica e especificidade do QUANTA Flash Ro52 na MAI:

Análise Clínica n=136		Diagnóstico			Análise (Intervalo de segurança de 95 %)
		MAI	Não MAI	Total	
QUANTA Flash® Ro52	Positivo	14	3	17	Sensibilidade = 35,0 % (20,6-51,7 %)
	Negativo	26	93	119	Especificidade = 96,9% (91,1-99,4%)
	Total	40	96	136	

Comparação do método com dispositivo implicado

As amostras para comparação de métodos incluíram as amostras dos estudos de validação clínica (doentes com SS, LES, ES e MAI; outros controlos de doença e dadores de sangue aparentemente saudáveis) que estavam dentro do intervalo passível de relatório do ensaio. Testaram-se sessenta e duas destas amostras no QUANTA Flash Ro52 e no dispositivo implicado ELISA. Os dados são apresentados na tabela seguinte.

Comparação do Método (N=62)		Ro52 ELISA			Concordância de Percentagem (Intervalo de segurança de 95 %)
		Negativo	Positivo	Total	
IEQ QUANTA Flash® Ro52	Negativo	40	2	42	Concordância Pos. = 90,0 % (68,3 - 98,8 %)
	Positivo	2	18	20	Concordância Neg. = 95,2 % (83,8 - 99,4 %)
	Total	42	20	62	Concordância Total = 93,5 % (84,3 - 98,2 %)

Precisão e reprodutibilidade

Avaliou-se a precisão do ensaio do QUANTA Flash Ro52 testando 6 amostras de soro 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	13,43	0,56	4,1	0,29	2,2	1,55	11,6	1,68	12,5
2	84	21,36	0,90	4,2	0,42	2,0	2,26	10,6	2,47	11,5
3	84	61,56	2,86	4,6	1,39	2,3	5,12	8,3	6,03	9,8
4	84	144,15	9,49	6,6	0,00	0,0	14,16	9,8	17,04	11,8
5	88	275,83	16,62	6,0	0,00	0,0	25,67	9,3	30,58	11,1
6	80	820,46	56,42	6,9	33,78	4,1	51,26	6,2	83,37	10,2

Intervalo de medição analítica: limites e linearidade

O intervalo de medição analítica (IMA) do ensaio situa-se entre 2,3 UQ e 1685,3 UQ.

O limite de deteção deste ensaio é 668,9 URL, que está abaixo do IMA do ensaio (2,3 UQ). Determinou-se ser consistente com a diretriz CLSI EP17-A com proporções de falsos positivos (α) inferiores a 5 % e falsos negativos (β) inferiores a 5 %.

Todo o IMA, desde 2,3 UQ até 1685,3 UQ, é linear. Realizou-se um estudo de linearidade de acordo com a CLSI EP6-A utilizando 6 amostras de soro com várias concentrações de anti-Ro52. Todas as 6 amostras mostraram linearidade de diluição individualmente e os dados combinados apresentaram os resultados seguintes:

Amostra	Intervalo do Teste (UQ)	Inclinação (95 % IS)	Interceção Y (95 % IS)	R ²
Todas as Amostras	0,6 a 1758,6	1,03 (1,02 a 1,04)	3,61 (-0,86 a 8,08)	1,00

Interferência, reatividade cruzada

Não se detetou nenhuma interferência com até 200 mg/dL de hemoglobina, 1000 mg/dL de triglicéridos, 224,3 mg/dL de colesterol, 10 mg/dL de bilirrubina e 500 UI/mL de FR IgM.

Testaram-se noventa e seis amostras de doentes com várias doenças autoimunes e infecciosas para avaliar reatividade cruzada. Uma amostra de um doente com hepatite viral e duas amostras de doentes com artrite reumatoide foram positivas no IEQ QUANTA Flash Ro52.

Calibradores

Para Utilização em Diagnóstico *In Vitro*

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

Utilização prevista

Os Calibradores QUANTA Flash Ro52 destinam-se a utilização com os Reagentes QUANTA Flash Ro52 para a determinação de autoanticorpos IgG anti-Ro52 em soro humano. Cada calibrador estabelece um ponto de referência para a curva de trabalho utilizada para calcular valores unitários.

Resumo e princípios do procedimento

O imunoensaio quimioluminescente (IEQ) QUANTA Flash Ro52 utiliza uma Curva Modelo específica do lote predefinida que está armazenada no código de barras do cartucho de reagente. Os Calibradores QUANTA Flash Ro52 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 Ro52. Antes da atribuição do valor, testam-se os calibradores em vários instrumentos com diversos lotes de reagentes.

Reagentes

1. Calibrador 1 do QUANTA Flash Ro52: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,3 mL de reagente pré-diluído pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos humanos para Ro52 em estabilizadores e conservantes.
2. Calibrador 2 do QUANTA Flash Ro52: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,3 mL de reagente pré-diluído pronto a usar. Calibradores contendo anticorpos humanos para Ro52 em estabilizadores e conservantes.

Advertências

1. Todo o material de origem humana utilizado na preparação dos calibradores deste produto foi testado e deu resultados negativos com 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. Portanto, devem manipular-se os Calibradores QUANTA Flash Ro52 como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.¹⁰
2. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
3. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Respeitar 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 Ro52 destinam-se a ser utilizados com o ensaio QUANTA Flash Ro52.
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 o reagente tem de ser eliminado.
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 recomendado do instrumento, 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 Ro52 (vendidos separadamente – número de peça 701262) após a calibração de um lote de cartucho de reagente.

Rastreabilidade

Não está disponível soro de referência internacional para anticorpos anti-Ro52 que permita a normalização de ensaios de anticorpo anti-Ro52. Em vez deste, testou-se o soro de referência do Center of Disease Control and Prevention para anticorpos anti-SS-A/Ro (IS2105 ANA #7 anti-SS-A/Ro) e determinou-se uma concentração de 40,8 UQ.

Limitações

Estes calibradores estão concebidos para 4 calibrações. O tempo total em que os tubos calibradores podem estar destapados dentro do instrumento é de 8 horas. Se se deixarem os calibradores destapados, dentro do instrumento, durante mais tempo, deverão ser eliminados. 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

Os controlos QUANTA Flash Ro52 destinam-se a utilização com os Reagentes QUANTA Flash Ro52 para controlo de qualidade na determinação de autoanticorpos IgG anti-Ro52 em soro humano.

Resumo e princípios do procedimento

Os Controlos QUANTA Flash Ro52 são constituídos por um Controlo Negativo e um Controlo Positivo. Cada um contém uma quantidade diferente de anticorpos anti-Ro52. O Controlo Negativo destina-se a avaliar a precisão e a exatidão do ensaio com níveis de autoanticorpo muito baixos. O Controlo Positivo destina-se a avaliar a precisão e a exatidão do ensaio com níveis de autoanticorpo desde moderados a elevados.

Reagentes

1. Controlo Negativo do QUANTA Flash Ro52: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 mL de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos humanos para Ro52 em estabilizadores e conservantes.
2. Controlo Positivo do QUANTA Flash Ro52: dois (2) tubos marcados com código de barras, contendo 0,5 mL de reagente pronto a usar. Controlos contendo anticorpos humanos para Ro52 em estabilizadores e conservantes.

Advertências

1. Todo o material de origem humana utilizado na preparação dos controlos deste produto foi testado e deu resultados negativos com 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. Portanto, devem manipular-se os Controlos QUANTA Flash Ro52 como se fossem qualquer material potencialmente infeccioso.¹⁰
2. Usar equipamento de proteção individual apropriado para trabalhar com os reagentes fornecidos.
3. Os salpicos de reagentes devem ser limpos imediatamente. Respeitar 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 Ro52 destinam-se a ser utilizados com o ensaio QUANTA Flash Ro52.
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 **por utilização** de **10 minutos** inserido 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 recomendado do instrumento, 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 por utilização de **10 minutos** inseridos no instrumento. 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, deverão ser eliminados. 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.
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 Ro52:

1. Antes de utilizar Controlos QUANTA Flash Ro52 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 Ro52 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 novo lote de Controlos QUANTA Flash Ro52 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 Ro52 na coluna do lado esquerdo. Em seguida, realce o material do controlo apropriado do lado direito (“Ro52N” para Controlo Negativo ou “Ro52P” para 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 Ro52 da lista e clique em **Add**. Clique em **Save**. Execute este processo para ambos os controlos.

Recomenda-se que os Controlos QUANTA Flash Ro52 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 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-Ro52 que permita a normalização de ensaios de anticorpo anti-Ro52. Em vez deste, testou-se o soro de referência do Center of Disease Control and Prevention para anticorpos anti-SS-A/Ro(IS2105 ANA #7 anti-SS-A/Ro) e determinou-se uma concentração de 40,8 UQ.

Limitações

Estes controlos estão concebidos para 15 utilizações. A etiqueta de cada tubo de controlo tem uma fila de 15 caixas que podem marcar-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, deverão ser eliminados. 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. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA: **Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists.** *Arch Pathol Lab Med.* 2000, **124(1)**:71-81.
2. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M: **Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system.** *Autoimmun Rev.* 2009, **8(7)**:632-637.
3. Ghillani P, André C, Toly C, Rouquette AM, Bengoufa D, Nicaise P, Goulvestre C, Gleizes A, Dragon-Durey MA, Alyanakian MA, Chretien P, Chollet-Martin S, Musset L, Weill B, Johanet C: **Clinical significance of anti-Ro52 (TRIM21) antibodies non-associated with anti-SSA 60kDa antibodies: results of a multicentric study.** *Autoimmun Rev.* 2011, **10(9)**: 509-513.
4. Defendenti C, Atzeni F, Spina MF, Grosso S, Cereda A, Guercilena G, Bollani S, Saibeni S, Puttini PS: **Clinical and laboratory aspects of Ro/SSA-52 autoantibodies.** *Autoimmun Rev.* 2011, **10(3)**:150-154.
5. Parker JC, Burlingame RW, Bunn CC: **Prevalence of antibodies to Ro-52 in a serologically defined population of patients with systemic sclerosis.** *J Autoimmune Dis.* 2009, **6**:6:2.
6. Brouwer R, Hengstman GJ, Vree Egberts W, Ehrfeld H, Bozic B, Ghirardello A, Grøndal G, Hietarinta M, Isenberg D, Kalden JR, Lundberg I, Moutsopoulos H, Roux-Lombard P, Vencovsky J, Wikman A, Seelig HP, van Engelen BG, van Venrooij WJ: **Autoantibody profiles in the sera of European patients with myositis.** *Ann. Rheum. Dis.* 2001, **60(2)**:116-123.
7. Rutjes SA, Vree Egberts WT, Jongen P, Van Den Hoogen F, Pruijn GJ, Van Venrooij WJ. **Anti-Ro52 antibodies frequently co-occur with anti-Jo-1 antibodies in sera from patients with idiopathic inflammatory myopathy.** *Clin Exp Immunol.* 1997, **109(1)**:32-40.
8. La Corte R, Lo Mo Naco A, Locaputo A, Dolzani F, Trotta F: **In patients with antisynthetase syndrome the occurrence of anti-Ro/SSA antibodies causes a more severe interstitial lung disease.** *Autoimmunity* 2006, **39(3)**: 249-253.
9. Vancsa A, Csipo I, Nemeth J, Devenyi K, Gergely L, Danko K: **Characteristics of interstitial lung disease in SS-A positive/Jo-1 positive inflammatory myopathy patients.** *Rheumatol. Int.* 2009, **29(9)**: 989-994.
10. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Símbolos Utilizados



Dispositivo médico para diagnóstico *In Vitro*



Consultar as instruções de utilização



Limite de temperatura



Não reutilizar



Riscos biológicos



Código do lote



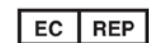
Número de catálogo



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 da INOVA Diagnostics Inc. BIO-FLASH é uma marca comercial registrada 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

621260PRT

Novembro de 2012

Revisão 0

