



Quantum Blue[®] Anti-Adalimumab

Ensaio Qualitativo
de Fluxo Lateral

Para uso em diagnósticos *in vitro*

LF-ADAD25 25 testes
LF-ADAD10 10 testes

Data de lançamento: 2023-04-27
Versão A3

 Fabricante

BÜHLMANN Laboratories AG
Baselstrasse 55
4124 Schönenbuch, Suíça
Tel.: +41 61 487 1212
Fax: +41 61 487 1234
info@buhlmannlabs.ch

PORTUGUÊS

USO PRETENDIDO

O teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab consiste em um imunoenensaio de diagnóstico *in vitro* qualitativo para detecção de anticorpos anti-adalimumabe em amostras de soro humano. O teste serve como auxiliar na monitorização da terapêutica medicamentosa em pacientes com doenças intestinais inflamatórias (DII) e artrite reumatoide (RA) que estejam recebendo terapia com adalimumabe. O teste é usado em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais. O Quantum Blue® Anti-Adalimumab é combinado com o leitor Quantum Blue® Reader.

Para uso em laboratório.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste se destina à medição seletiva dos anticorpos anti-adalimumabe por imunoenensaio tipo sanduíche. As intensidades dos sinais da linha de teste (T) e da linha de controle (C) são medidas pelo Quantum Blue® Reader. Os resultados são indicados como negativos, <neg(-)> ou positivos, <pos(+)>.

REAGENTES FORNECIDOS E PREPARAÇÃO

Reagentes	Quantidade		Código	Observações
	LF-ADAD25	LF-ADAD10		
Cassete de teste	25 unidades	10 unidades	B-LFADAD-TC	Embalagem selada a vácuo
Tampão de diluição	1 frasco 10 mL	1 frasco 10 mL	B-LFADAD-CB	Pronto para uso
Controles Baixo*/Alto*	2 frascos, 0,1 mL	2 frascos, 0,1 mL	B-LFADAD-CONSET	Dilua a 1:10 no tampão de diluição antes de usar
Cartão Chip RFID	1 pedaço	1 pedaço	B-LFADAD-RCC	Cartão de plástico branco
Cartão Chip RFID	1 pedaço	1 pedaço	B-LFADAD-RCC15	Cartão de plástico verde
Cartão de código de barras	1 pedaço	1 pedaço	B-LFADAD-BCC	Cartão de código de barras de plástico 2D

Tabela 1

*Os controles são específicos a cada lote. Os controles baixo e alto devem ser indicados como <neg(-)> e <pos(+)>, respectivamente.

CONFIRA SEU KIT

Os produtos BÜHLMANN foram fabricados com o máximo cuidado e foram envidados todos os esforços para assegurar a integralidade deste kit de teste e o seu desempenho. Não obstante, aconselhamos a verificar as condições do cassete de teste e da sua respectiva embalagem no kit com base nos seguintes critérios:

- data de validade.
- ausência de danos na embalagem (p. ex., inexistência de perfurações que possam ser causadas por manipulação imprópria).

- ausência de danos no cassete de teste (p. ex., ausência de riscos na membrana analítica).

Caso algum dos cassetes de teste não cumpra os critérios acima indicados, substitua-a por outro.

ARMAZENAMENTO E VALIDADE DOS REAGENTES

Reagentes não abertos	
Guarde a uma temperatura na faixa de 2-8 °C. Não use os reagentes depois da data de validade impressa nas etiquetas.	
Reagentes abertos	
Cassete de teste	Os cassetes de teste removidos da embalagem alumínizada devem ser usados dentro de 4 horas.
Tampão de diluição	Depois de abrir, guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2-8 °C.
Controles Baixo / Alto	Depois de abrir, guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2-8 °C.

Tabela 2

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Vórtex
- Cronômetro (opcional)
- Pipetas de precisão com pontas descartáveis: 10-100 µL e 100-1000 µL
- Tubos Eppendorf (ou equivalentes) para diluição das amostras de soro
- Quantum Blue® Reader disponível na BÜHLMANN (referência: BI-POCTR-ABS)
- Luvas e avental de laboratório

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

Precauções de segurança

- Amostras devem ser manuseadas como transmissoras de doenças infecciosas e de acordo com as boas práticas laboratoriais.
- Os controles e o tampão de diluição deste kit contêm um ou mais componentes classificados de acordo com a Regulamentação (CE) n.º 1272/2008: cloridrato de 2-metil-4-isotioazolin-3-ona (conc. ≥ 0,0015%). Portanto, os reagentes podem provocar reações alérgicas na pele (H317).
- Evite o contato dos reagentes com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente com água em abundância, caso contrário, poderá ocorrer irritação.
- As soluções não utilizadas devem ser eliminadas de acordo com a Regulamentação das Entidades Governamentais Locais.

Precauções técnicas

Componentes do kit

- O teste deve ser realizado à temperatura ambiente (20-26 °C).
- Todos os reagentes e amostras de teste devem ser equilibrados à temperatura ambiente antes do início do ensaio.

- Uma vez equilibrado à temperatura ambiente, remova o cassete de teste da embalagem aluminizada. Antes de iniciar o ensaio, aguarde até pelo menos 2 minutos para que o cassete de teste atinja o equilíbrio com o ambiente do laboratório.
- Misture bem (p. ex., no vórtex) os reagentes antes de usar.
- Os componentes não podem ser utilizados após a data de validade impressa nos rótulos.
- Não misture lotes de reagentes diferentes.
- Não desmonte a cassete de teste.
- Os cassetes de teste não podem ser reutilizados.
- Manuseie os cassetes de teste com cuidado. Não contamine a zona de introdução da amostra ou a janela de leitura por contato com a pele, outros líquidos, etc. (figura 1D).
- Assegure-se de que mantém o cassete de teste na horizontal enquanto realiza o teste.

Procedimento do teste

- Leia cuidadosamente as instruções antes de realizar o teste. O desempenho do teste é afetado negativamente se os reagentes forem incorretamente diluídos, manuseados ou conservados em condições que não as indicadas nestas instruções de utilização.
- Note que há duas gerações de leitores: O Quantum Blue® Reader de 2ª geração com números de série entre 1000 e 3000 (QB2) e o Quantum Blue® Reader de 3ª geração com números de série acima de 3000 (QB3G).
- O leitor QB2 deve ser ligado e programado para o teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab. Antes de iniciar o ensaio, carregue o método do ensaio usando o cartão com chip RFID (B-LFADAD-RCC ou B-LFADAD-RCC15) (ver manual do Quantum Blue® Reader).
- O leitor QB3G deve ser ligado e programado para o teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab usando-se o cartão de código de barras (B-LFADAD-BCC) ou selecionando-se no menu do teste (somente para o Fast Track Mode). Para mais informações, consulte o manual do Quantum Blue® Reader.
- Utilize o cartão com chip RFID (QB2) / cartão de código de barras (QB3G) para alterar parâmetros do teste específicos de cada lote.
- As amostras que não sejam corretamente manuseadas podem causar resultados inexatos.
- Amostras diluídas devem ser medidas imediatamente e não podem ser armazenadas por mais de 15 horas à temperatura ambiente (≤ 23 °C).

COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Colete o sangue em tubos simples por venopunção sem nenhum aditivo, evitando hemólise. Execute a preparação do soro de acordo com as instruções do fabricante. Decante o soro.

As amostras de soro não diluídas podem ser armazenadas sem refrigeração (temperaturas até 28 °C) por até 9 dias ou armazenadas refrigeradas (2-20 °C) por 15 dias. Para períodos de armazenamento mais longos, mantenha as amostras não diluídas de soro a ≤ -20 °C. As amostras

permanecem estáveis por até 13 meses a ≤ -20 °C. Evite uma quantidade superior a seis ciclos de congelamento-descongelamento.

PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Para o teste, use somente reagentes equilibrados à temperatura ambiente. O cassete de teste deve ser removido da embalagem metalizada antes do começo do teste.

O procedimento do ensaio consiste em dois passos:

1. Diluição de amostras de soro e controles com o tampão de diluição

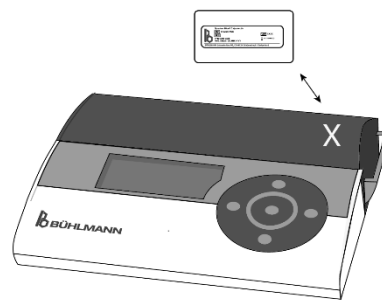
Antes de fazer a medição, dilua as amostras de soro e os controles a 1:10 com o tampão de diluição (B-LFADAD-CB) (e.g., misture 20 μ L da amostra de soro ou controle com 180 μ L do tampão de diluição em um tubo de ensaio) e misture por vórtex, pipetagem ou agitação.



2. Procedimento e leitura do ensaio

QB2

É possível carregar dois métodos alternativos do respectivo cartão com chip RFID: B-LFADAD-RCC15 (com cronômetro interno) ou B-LFADAD-RCC (sem cronômetro interno). Selecione um dos cartões com chip RFID antes de iniciar as experiências. Carregue o método de teste do cartão com chip RFID no Quantum Blue® Reader.



QB3G

Dois modos de operação diferentes são disponibilizados para a medição de amostras com o QB3G: Fast Track Mode e Fail Safe Mode. Antes do início do teste, informe-se para identificar o modo de operação do seu leitor.

O método de teste pode ser carregado a partir do cartão de código de barras (Fast Track Mode e Fail Safe Mode) ou selecionado no menu do teste, se já houver sido usado anteriormente (somente para o Fast Track Mode). As medições podem ser realizadas com ou sem um cronômetro interno no Fast Track Mode. No Fail Safe Mode, as medições somente podem ser feitas com um cronômetro interno.

Siga as instruções fornecidas na tela do QB3G. Também é possível consultar os Guias Rápidos do QB3G para o Fast Track Mode e o Fail Safe Mode.



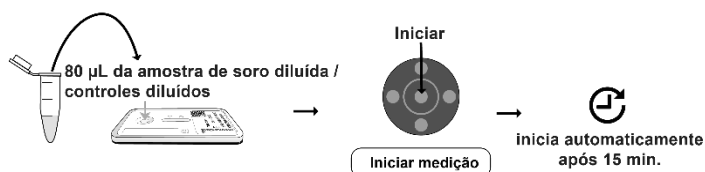
2.1. Método com cronômetro interno

QB2: utilize o cartão chip RFID verde B-LFADAD-RCC15

QB3G (Fast Track Mode): quando o QB3G perguntar se você deseja ignorar o tempo de incubação, selecione “NÃO”

QB3G (Fail Safe Mode): configuração padrão

- Desembale o cassete do teste. Aguarde até pelo menos 2 minutos para que o cassete de teste atinja o equilíbrio com a temperatura ambiente do laboratório.
- Adicione 80 µL da amostra de soro diluída na zona de introdução da amostra do cassete de teste (figura 1D).
- Introduza o cassete de teste no suporte para ele existente no Quantum Blue® Reader.
- Feche o porta-cassete e inicie a medição pressionando o botão de iniciar no QB2, ou a opção "Iniciar medição" no QB3G.
- A leitura inicia-se automaticamente após 15 minutos.
- Para os controles baixo / alto: Repita a etapa 2.1 usando 80 µL de controles diluídos em vez de soro diluído.



2.2. Método sem cronômetro interno

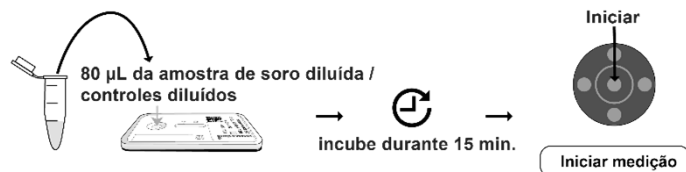
QB2: utilize o cartão chip RFID branco B-LFADAD-RCC

QB3G (Fast Track Mode): quando o QB3G perguntar se você deseja ignorar o tempo de incubação, selecione “SIM”

QB3G (Fail Safe Mode): opção não disponível

- Desembale o cassete do teste. Aguarde até pelo menos 2 minutos para que o cassete de teste atinja o equilíbrio com a temperatura ambiente do laboratório.
- Adicione 80 µL da amostra de soro diluída na zona de introdução da amostra do cassete de teste (figura 1D).
- Incube durante 15 ± 1 minutos (programme manualmente um cronômetro).

- Introduza o cassete de teste no suporte para ele existente no Quantum Blue® Reader.
- Faça a leitura do cassete do teste com o Quantum Blue® Reader imediatamente pressionando o botão de iniciar no QB2, ou a opção "Iniciar medição" no QB3G.
- Para os controles baixo / alto: Repita a etapa 2.2 usando 80 µL de controles diluídos em vez de soro diluído.



Nota: Consulte o manual do Quantum Blue® Reader para conhecer as funções básicas e saber como inicializar e operar os Quantum Blue® Readers, especialmente como selecionar métodos de teste e como carregar parâmetros específicos a cada lote a partir do cartão RFID com chip (QB2) / cartão de código de barras (QB3G) no Quantum Blue® Reader. Certifique-se de inserir o cassete do teste corretamente no Quantum Blue® Reader, começando pela janela de leitura (figura 1D).

CONTROLE DE QUALIDADE

- Se o desempenho do teste não se correlacionar com os limites estabelecidos e as repetições excluam erros técnicos, verifique o seguinte: i) pipetagem, temperatura e tempos dos diferentes passos, ii) data validade dos reagentes e iii) condições armazenamento e incubação.
- A autocalibração do Quantum Blue® Reader (calibration check) quando é iniciado tem que ser válida.

ESTANDARDIZAÇÃO

- O material do calibrador é um anticorpo monoclonal IgG humano antiadalimumabe em uma matriz de soro humano.
- O Quantum Blue® Reader utiliza uma curva de calibração específica ao lote para calcular a concentração de antiadalimumabe em equivalentes ($\mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$) para o calibrador do IgG monoclonal antiadalimumabe. O intervalo de confiança de 95% da incerteza combinada dos calibradores do produto é inferior a 25,0%, enquanto a incerteza combinada dos controles fica abaixo de 30,0%.
- O Quantum Blue® Reader indica o resultado como negativo, <neg(-)>, se a concentração da amostra ficar abaixo de 0,2 $\mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$. Resultados iguais ou superiores a 0,2 $\mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$ são indicados como positivos, <pos(+)>.

VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS

- Em um resultado válido, a linha de controle (C) tem que ser sempre visível (ver figura 1A e figura 1B). É um teste de controle/validação que não pode ser usado para interpretar a linha de teste (T). Se a linha de teste (T) não for detectável após os 15 min de incubação (figura 1A), a concentração de anti-adalimumabe presente na amostra é inferior ao limite de detecção. Se a linha de teste (T) for detectável após os 15 min de incubação

(figura 1B), a concentração da anti-adalimumabe presente é calculada pelo Quantum Blue® Reader.

- Se apenas a linha de teste (T) for detectável após os 15 min de incubação (figura 1C), o resultado do teste é inválido e o teste de anti-adalimumabe tem que ser repetido com outro cassete.
- Se nem a linha de controle (C) nem a linha de teste (T) forem detectáveis após 15 min de incubação (figura 1D), o resultado do teste é inválido e o teste de anti-adalimumabe tem que ser repetido com outro cassete.
- Como o Quantum Blue® Reader permite a avaliação das linhas de teste (T) e de controle (C), há uma validação adicional da linha de controle (C). Se a intensidade do sinal da linha de controle (C) for inferior a um limiar pré-configurado específico à determinada para esse lote após 15 min de incubação, o resultado do teste é inválido e o teste de anti-adalimumabe tem que ser repetido com outro cassete.

LIMITAÇÕES

- O Quantum Blue® Anti-Adalimumab é um teste sensível a medicamentos e, portanto, somente pode ser usado em amostras com concentrações não detectáveis de adalimumabe.
- Os reagentes fornecidos com este kit são otimizados para medir níveis de anticorpos antiadalimumabe em amostras de soro.
- Os resultados dos testes com o Quantum Blue® Anti-Adalimumab devem ser interpretados em combinação a outros resultados clínicos e laboratoriais. Isto inclui a determinação da atividade de doenças, determinação de níveis mínimos de adalimumabe, e informações sobre a adesão do paciente à terapia.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O Quantum Blue® Reader exibe as seguintes categorias de resultados para o teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab:

Display	Interpretação
neg(-)	resultado negativo
pos(+)	resultado positivo

Tabela 3

DETERMINAÇÃO DO VALOR DE CORTE

O valor de corte técnico foi estabelecido como 0,2 µg_{eq}/mL com base em resultados obtidos em um estudo de intervalo de referência e no limite de detecção (LoD) do ensaio (consulte também a seção Características de desempenho).

Intervalo de referência

O intervalo de referência do teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab foi determinado de acordo com a diretriz C28-A3 do CLSI, com 120 amostras de soro de indivíduos saudáveis, com quantidades iguais de homens e mulheres. As medições foram realizadas por três dias por dois operadores, usando-se dois lotes do Quantum Blue® Anti-Adalimumab, resultando em 240 valores (ref. 1).

Intervalo de referência [µg _{eq} /mL]	
Percentil 2,5 (90% do IC)	Percentil 97,5 (90% do IC)
0,0 (0,0 - 0,0)	0,1 (0,0 - 0,2)

Tabela 4

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

As seguintes características de desempenho foram estabelecidas com o Quantum Blue® Reader 2ª e 3ª geração.

As características de desempenho indicadas se aplicam às duas gerações do leitor.

Comparação de métodos

Concordância do ensaio: 91,3%.

Cento e vinte (120) amostras clínicas foram medidas com 2 lotes do teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab por 4 dias, resultando em 240 valores, dos quais 42 foram negativos e 198, positivos. As mesmas amostras foram medidas em duplicata usando-se um teste ELISA disponível comercialmente. Os valores médios do ELISA foram classificados como positivos ou negativos de acordo com o valor de corte indicado, e a concordância total entre ambos os ensaios foi calculada. Os resultados estão resumidos na Tabela 5.

Precisão intralaboratorial: 100% intracategoria

A repetibilidade e a precisão intralaboratorial foram determinadas de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo de estudo padrão de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas (ref. 2). Três (3) amostras de soro agrupadas foram testadas: negativa, positiva baixa e positiva alta. Os resultados estão resumidos na Tabela 6.

Reprodutibilidade: 100% intracategoria

A reprodutibilidade foi determinada de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de estudo de 3 instrumentos / lotes / operadores x 5 dias x 5 replicatas (ref. 2). Três (3) amostras de soro agrupadas foram testadas: negativa, positiva baixa e positiva alta. Os resultados estão resumidos na Tabela 7.

Limite de detecção (LoD): 0,1 µg_{eq}/mL

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI e com as proporções de falsos positivos (α) inferiores a 5% e falsos negativos (β) inferiores a 5% com base em 120 determinações, com 60 brancos e 60 replicatas de baixo nível, e um LoB de 0,0 µg_{eq}/mL (ref. 3).

Efeito gancho com dose elevada

Nenhum resultado negativo foi observado para amostras artificiais com concentrações teóricas de antiadalimumabe de até 592,5 µg_{eq}/mL. O estudo foi realizado com dois lotes de Quantum Blue® Anti-Adalimumab.

SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

A suscetibilidade do teste Quantum Blue® Anti-Adalimumab a substâncias interferentes foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A2, aprovada pelo CLSI. As substâncias interferentes foram testadas a concentrações três vezes maiores que aquelas reportadas ou esperadas em amostras clínicas, ou em níveis de concentração recomendados pela diretriz EP07-A2 do CLSI (ref. 4). Foram testadas pelo menos 7 replicatas por interferente. Um resultado fora da categoria para uma única replicata foi considerado como interferência.

Bloqueador de TNF α

Os bloqueadores de TNF α foram testados a concentrações três vezes acima dos níveis de vale mais baixos recomendados para o medicamento. Nenhuma interferência foi detectada com a seguinte substância até a concentração listada: infliximabe (Remicade[®], 10 μ g/mL). Foram detectadas interferências com a substância adalimumabe (Humira[®], 15 μ g/mL). O efeito da interferência foi adicionalmente caracterizado por um teste de dose-resposta. Os resultados indicaram que a presença de antiadalimumabe somente pode ser avaliada em amostras com níveis não detectáveis de adalimumabe.

Índices séricos

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: Triglicérides (1320 mg/dL de Intralipid[®], equivalente a 37 mmol/L de triglicérides), bilirrubina conjugada (342 μ mol/L, 29 mg/dL), bilirrubina não conjugada (342 μ mol/L, 20,0 mg/dL), hemoglobina (200 g/L), e fatores reumatóides (600 UI/mL).

Imunossupressores e outros medicamentos

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: azatioprina (10,8 μ mol/L, 3,0 μ g/mL), 6-mercaptopurina (13,1 μ mol/L, 2,0 μ g/mL) e metotrexato (149,6 μ mol/L, 68,0 μ g/mL).

TABELAS E FIGURAS

Resultados dos testes

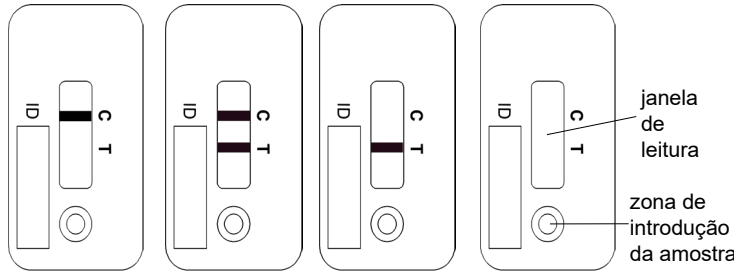


Figura 1A Figura 1B Figura 1C Figura 1D

Comparação de métodos

		Comparador		
		Negativo	Positivo	Total
Quantum Blue® Anti-Adalimumab	Negativo	19,2%	6,3%	25,4%
	Positivo	2,5%	72,1%	74,6%
	Total	21,7%	78,3%	100%

91,3%

Tabela 5

Repetibilidade / Precisão intralaboratorial

Amostra	Descrição	n	Conc. média [$\mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$]	% intra-categoria
S1	Negativo	80	0,0	100
S2	Baixo Positivo	80	0,3	100
S3	Alto Positivo	80	1,4	100

Tabela 6

Reprodutibilidade

Amostra	Descrição	n	Conc. média [$\mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$]	% intra-categoria
S1	Negativo	75	0,0	100
S2	Baixo Positivo	75	0,4	100
S3	Alto Positivo	75	2,0	100

Tabela 7

REFERÊNCIAS

1. CLSI. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition*. CLSI document C28-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
2. CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline - Third Edition*. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
3. CLSI. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition*. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
4. CLSI. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition*. CLSI document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Data	Versão	Alteração
2023-04-27	A3	Atualização do capítulo <i>Advertências e precauções</i> Incluído valores de incerteza para calibrador e controles de produtos no capítulo <i>Estandarização</i> Introdução do capítulo <i>Referências</i> Revisão do capítulo <i>Símbolos</i> Incluído o número do órgão notificado na marcação CE - procedimento de avaliação de conformidade de acordo com a regulamentação IVDR 2017/746

NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE







Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

DANOS DE TRANSPORTE

Informe seu distribuidor caso o produto seja recebido danificado.

SÍMBOLOS

BÜHLMANN utiliza símbolos e sinais listados e descritos na ISO 15223-1. Além disso, são utilizados os seguintes símbolos e letreiros:

Símbolo	Explicação
	Cassete de teste
	Tampão de diluição
	Controle Baixo
	Controle Alto
	Cartão Chip RFID
	Cartão de código de barras

