



PT

DNA de cadeia dupla (Crithidia I.)

REF FA1001

IVD

Rx Only



USO PRETENDIDO

O kit DNA de cadeia dupla (Crithidia I.) é uma análise de imunofluorescência indireta que utiliza *Crithidia luciliae* para a determinação qualitativa e semiquantitativa de anticorpos IgG contra DNA de cadeia dupla (DNA-fd) no soro humano, por meio de microscopia de fluorescência manual ou com o microscópio automatizado dIFine®. A presença de anticorpos contra DNA de cadeia dupla, em conjunto com outros achados sorológicos e clínicos, pode auxiliar no diagnóstico de lúpus eritematoso sistêmico (LES).

RESUMO E EXPLICAÇÃO

Anticorpos contra DNA de cadeia dupla são frequentemente encontrados em soros de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) espontâneo ativo e doenças lúpicas induzidas por medicamentos (1 - 9). A presença de anticorpos contra DNA de cadeia dupla é indicativa de LES ativo e está fortemente correlacionada com o início da nefrite lúpica (5, 10 - 13). A especificidade dos anticorpos contra DNA de cadeia dupla para LES é muito maior do que a dos anticorpos antinucleares (5, 12). Portanto, a detecção de anticorpos contra DNA de cadeia dupla fornece informações valiosas tanto diagnósticas quanto prognósticas para o diagnóstico diferencial de LES (5, 10 - 13). Anticorpos contra DNA foram descobertos em soros de pacientes com LES há várias décadas (1 - 4). Desde então, os anticorpos contra DNA têm sido estudados por várias técnicas, incluindo difusão em gel (1, 14 - 15), fixação de complemento (2, 14, e 16), aglutinação (17, 18), testes de ponto de DNA (13, 19), radioimunoelétróforese (20), contraimunoelétróforese (21, 22), precipitação com sulfato de amônio (10, 23, e 24) e ELISA (38). Considerável esforço foi dedicado para determinar a especificidade dos anticorpos contra DNA. Agora está claro que anticorpos foram encontrados que reagem tanto com DNA de cadeia dupla (DNA-fd) quanto com DNA de fita simples desnaturado (DNA-s) ou ambos (8, 12, 14, e 20). Acredita-se que os anticorpos contra DNA de cadeia dupla se correlacionem com a atividade clínica da doença (2, 5, 10, 25, 39, 40). Além disso, anticorpos contra DNA de cadeia dupla foram eluídos dos rins de pacientes com LES, e um estudo demonstrou a presença de complexos DNA-anti-dsDNA em soros de pacientes com LES ativo (26). No entanto, esses anticorpos foram encontrados em pacientes com e sem nefrite lúpica ativa (27, 28).

A análise de fluorescência indireta (IFA) para anticorpos contra DNA de cadeia dupla (Crithidia I.) é baseado no uso do substrato cinetoplasto de *Crithidia I.*, descrito pela primeira vez por Aarden et al. (29). Este método é um teste laboratorial útil para detectar anticorpos contra DNA de cadeia dupla em pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (30 - 33).

PRINCÍPIO DA ANÁLISE

O kit DNA de cadeia dupla (Crithidia I.) é uma análise de anticorpos fluorescentes indiretos (IFA) para a determinação qualitativa e semiquantitativa de anticorpos IgG anti-dsDNA em soros humanos. A reação ocorre em duas etapas:

1. Passo um: Se anticorpos contra DNA de cadeia dupla estiverem presentes, ocorre uma reação entre os anticorpos contra DNA de cadeia dupla e o cinetoplasto do substrato de *Crithidia I.* no primeiro passo.
2. Passo dois: O conjugado de anti-IgG de cabra contra o anticorpo humano, marcado com isotiocianato de fluoresceína (FITC), é adicionado ao substrato. Se o soro do paciente contiver anticorpos IgG anti-dsDNA, uma reação positiva de antígeno-anticorpo com fluorescência verde maçã será observada quando as lâminas forem examinadas com o microscópio de fluorescência. Uma reação positiva é reconhecida como uma reação de coloração intensa nos pequenos cinetoplastos do organismo *Crithidia I.*

REAGENTES

Materiais Fornecidos:

Cada sistema de teste contém os seguintes componentes em quantidades suficientes para realizar o número de testes indicado no rótulo da embalagem. **OBSERVAÇÃO: O conjugado e os controles contêm uma combinação de proclin (0,05% v/v) e azida de sódio (<0,1% w/v) como conservantes.**

SLD	1	Lâminas de substrato <i>Crithidia I.</i> : Dez lâminas de 10 poços com papel absorvente.
CONJ.	2	Conjugado: Anti-IgG de cabra contra o anticorpo humano marcado com FITC. Contém tampão fosfato com BSA e corante de contraste. Dois frascos âmbar com tampa de 3,5 ml. Pronto para usar.
CTRL +	3	Controle positivo (soro humano): Produzirá coloração verde maçã positiva nos cinetoplastos dos organismos <i>Crithidia I.</i> Um frasco de 0,5 mL com tampa vermelha . Pronto para usar.

CTRL -	4	Controle negativo (soro humano): Não produzirá coloração detectável de DNA de cadeia dupla. Um frasco de 0,5 mL, com tampa verde. Pronta para usar
BUF PBS	5	Solução salina tamponada com fosfato (PBS): pH 7,2 ± 0,2. Vazie o conteúdo de cada pacote de tampão em um litro de água destilada ou desionizada. Misture até que todos os sais estejam completamente dissolvidos. Dois pacotes, suficientes para preparar 2 litros.
MNTMED	6	Meio de montagem (glicerol tamponado): Um frasco de 3,0 ml com tampa branca e gotejador.
COVGLS	7	Lâmina de cobertura. Pacote com doze lâminas de 24 x 60 mm, espessura #1.

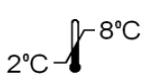
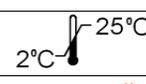
OBSERVAÇÕES:

Os seguintes componentes não dependem do número do lote do kit e podem ser usados de forma intercambiável com os produtos Sebia IFA, desde que os números dos produtos sejam idênticos: Meio de montagem (Número do produto: FA0009S), Controle negativo (FA2005-IUNC), Lâmina de cobertura (Produto S8007) e PBS (Número do produto: 0008S).

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

1. Microscópio automatizado dIFine® ou um microscópio de fluorescência adequadamente equipado.
2. Pipetador(es) capaz(es) de pipetar volumes entre 10 e 200 µL.
3. Pontas de pipeta descartáveis.
4. Pequenos tubos de ensaio, placa de diluição ou similar para preparar diluições de amostras.
5. Lavadora de lâminas, ou um grande recipiente de coloração com uma placa magnética para agitar, para lavar as lâminas entre os passos de incubação.
6. Água destilada ou deionizada.
7. Cilindro Graduado de 1 Litro.
8. Temporizador de laboratório para monitorar os passos de incubação.
9. Bacia de descarte, luvas descartáveis e desinfetante (ex: água sanitária doméstica a 10% – 0,5% de hipoclorito de sódio).

CUIDADOS DE ARMAZENAMENTO

	Kit Fechado.
	Meio de montagem, conjugado, lâminas, controles positivo e negativo.
	PBS reidratado (estável por 30 dias).
	Pacotes de solução salina tamponada com fosfato (PBS).

PRECAUÇÕES

1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Siga as precauções normais ao manipular reagentes laboratoriais. No caso de contato com os olhos, enxaguar imediatamente com água em abundância e consultar um médico. Use vestuário de proteção adequado, luvas e proteção para os olhos/rosto. Não inale os vapores. Descarte os resíduos observando todas as leis locais, estaduais e federais.
3. Os poços da lâmina não contêm organismos viáveis. No entanto, considere a lâmina como **material potencialmente biológico perigoso** e manuseie-a adequadamente.
4. Os controles são **materiais potencialmente biológicos perigosos**. Os materiais de origem dos quais esses produtos foram derivados foram considerados negativos para o antígeno HIV-1, HBsAg e para anticorpos contra HCV e HIV, por métodos de teste aprovados. No entanto, como nenhum método de teste pode oferecer garantia completa de que agentes infecciosos estão ausentes, esses produtos devem ser manuseados no Nível de Biossegurança 2, conforme recomendado para qualquer soro humano ou amostra de sangue potencialmente infecciosa, conforme o manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças/Institutos Nacionais de Saúde: edição atual; e o Padrão da OSHA para Patógenos Transmitidos pelo Sangue (20).
5. A aderência ao tempo e temperatura especificados para as incubações é essencial para resultados precisos. **Todos os reagentes devem ser deixados à temperatura ambiente (20 - 25°C) antes de iniciar a análise.** Devolva os reagentes não utilizados aos seus recipientes originais imediatamente e siga os requisitos de armazenamento.
6. Lavagem inadequada pode causar resultados falso-positivos ou falso-negativos. Certifique-se de minimizar a quantidade de PBS residual, pressionando com papel absorvente, antes de adicionar o conjugado. Não deixe os poços secarem entre as incubações.
7. O conjugado e os controles contêm azida de sódio em uma concentração de <0,1% (w/v). Foi relatado que a azida de sódio pode formar azidas de chumbo ou cobre nas tubulações laboratoriais, o que pode causar explosões ao bater. Para prevenir, enxágue bem a pia com água após descartar a solução contendo azida de sódio. Este conservante pode ser tóxico se ingerido.
8. A diluição ou adulteração desses reagentes pode gerar resultados errôneos.
9. Nunca pipete pela boca. Evite o contato de reagentes e amostras de pacientes com a pele e mucosas.

10. Evite a contaminação microbiana dos reagentes. Resultados incorretos podem ocorrer.
11. A contaminação cruzada de reagentes e/ou amostras pode causar resultados errôneos.
12. O material de vidro reutilizável deve ser lavado e enxaguado completamente, sem resíduos de detergentes.
13. Evite respingos ou geração de aerossóis.
14. Não exponha os reagentes à luz intensa durante o armazenamento ou incubação.
15. Permitir que o pacote de lâminas atinja a temperatura ambiente antes de abrir o envelope protetor ajudará a proteger os poços e o papel absorvente da condensação.
16. Colete a solução de lavagem em uma bacia de descarte. Trate a solução de resíduos com desinfetante (ex: água sanitária doméstica a 10% - 0,5% de hipoclorito de sódio). Evite a exposição dos reagentes aos vapores de água sanitária.
17. Não exponha nenhum dos reagentes reativos a soluções contendo água sanitária ou a odores fortes provenientes de soluções com água sanitária. Quantidades residuais de água sanitária (hipoclorito de sódio) podem destruir a atividade biológica de muitos dos reagentes reativos dentro deste sistema de teste.
18. Não aplique pressão sobre o envelope da lâmina. Isso pode danificar o substrato.
19. Os componentes deste sistema de teste são combinados para oferecer sensibilidade e reprodutibilidade ótimas. Reagentes de outros fabricantes não devem ser trocados. Siga o folheto informativo com atenção.
20. Os componentes não abertos/abertos são estáveis até a data de validade impressa no rótulo, desde que as condições de armazenamento recomendadas sejam rigorosamente seguidas. Não use após a data de validade. Não congelar.
21. O corante de contraste Evans Blue é um potencial carcinógeno. Se ocorrer contato com a pele, lave com água. Descarte de acordo com as regulamentações locais.
22. Não deixe as lâminas secarem durante o procedimento. Dependendo das condições do laboratório, pode ser necessário colocar as lâminas em uma câmara úmida durante as incubações.

COLETA DE AMOSTRAS

1. Realize a coleta de amostras de acordo com o documento CLSI M29: Proteção dos Trabalhadores de Laboratório contra Doenças Infecciosas Adquiridas Ocupacionalmente. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer garantia completa de que amostras de sangue humano não transmitirão infecções. Portanto, todos os derivados de sangue devem ser considerados potencialmente infecciosos.
2. Apenas soro recém-coletado e devidamente refrigerado, obtido por procedimentos assépticos aprovados de punção venosa, deve ser utilizado nesta análise(34, 35). Não devem ser adicionados anticoagulantes ou conservantes. Evite usar soro hemolisado, lipêmico ou contaminado por bactérias.
3. Armazene a amostra à temperatura ambiente por no máximo 8 horas. Se o teste não for realizado dentro de 8 horas, o soro pode ser armazenado entre 2 - 8 C, por no máximo 48 horas. Se houver previsão de atraso no teste, armazene o soro para teste a -20 C ou mais baixo. Evite ciclos múltiplos de congelamento/descongelamento, pois isso pode causar perda da atividade dos anticorpos e resultar em resultados errôneos. É responsabilidade de cada laboratório utilizar todas as referências disponíveis e/ou seus próprios estudos para determinar os critérios de estabilidade para seu laboratório (37).

PROCEDIMENTO DA ANÁLISE

1. Retire as lâminas e outros componentes do kit do armazenamento refrigerado e deixe-os atingir a temperatura ambiente (20 - 25 C). Abra o envelope protetor e retire as lâminas. **Não aplique pressão nas laterais planas do envelope protetor.**
2. Identifique cada poço com o soro do paciente e os controles apropriados. **OBSERVAÇÃO: Os controles devem ser utilizados sem diluição.** Prepare uma diluição de 1:10 (ex: 10µL de soro + 90µL de buffer PBS) de cada soro de paciente.
Opções Semiquantitativas:
 - a. Os usuários podem titular o controle positivo até o ponto final para servir como um controle semi-quantitativo (1+ Reagente Minimante). Nesses casos, o controle deve ser diluído em dois volumes de PBS. Uma diluição de ponto final é estabelecida e impressa no frasco do controle positivo (\pm uma diluição). Deve-se observar que, devido a variações dentro do laboratório (equipamento, etc.), cada laboratório deve estabelecer seu próprio título de ponto final esperado para cada lote de controle positivo.
 - b. Ao titrar as amostras dos pacientes, as diluições iniciais de 1:10 devem ser feitas em PBS, e todas as diluições subsequentes também devem ser preparadas em PBS.
3. Com um dispensador adequado, dispense 20µL de cada controle e de cada soro diluído do paciente nos poços apropriados.
4. Incube as lâminas à temperatura ambiente (20 - 25 C) por 35 \pm 5 minutos.
5. Lave suavemente as lâminas com PBS. Se a lavagem for feita manualmente, **não direcione um fluxo de PBS nos poços de teste.**
6. Lave as lâminas por dois intervalos de 5 minutos, trocando o PBS entre as lavagens.
7. Retire as lâminas do PBS uma de cada vez. Vire a lâmina e posicione os poços nas cavidades dos blotters fornecidos. Seque a lâmina pressionando o lado reverso com um lenço absorvente. CUIDADO: Posicione o blotter e a lâmina em uma superfície dura e plana. A secagem com toalhas de papel pode danificar a matriz da lâmina. **Não deixe as lâminas secarem durante o procedimento do teste.**
8. Adicione 20-40 µL de conjugado em cada poço.
9. Repita as etapas 4 a 7.

10. Aplique de 3 a 5 gotas de meio de montagem em cada lâmina entre os poços e coloque o vidro de cobertura. Alternativamente, pode-se aplicar uma pequena quantidade de meio de montagem em cada poço e colocar o vidro de cobertura. Examine as lâminas imediatamente com um microscópio de fluorescência apropriado.

OBSERVAÇÃO: Se houver atraso na observação das lâminas, selar o vidro de cobertura com esmalte transparente e armazená-las na geladeira. Recomenda-se que as lâminas sejam examinadas no mesmo dia do teste.

CONTROLE DE QUALIDADE

1. Sempre que a análise for realizado, um controle positivo e um controle negativo devem ser incluídos.
2. Recomenda-se que os controles positivo e negativo sejam lidos antes de avaliar os resultados do teste. Isso ajudará a estabelecer as referências necessárias para interpretar a amostra do teste. Se os controles não aparecerem conforme descrito, os resultados são inválidos.
 - a. Controle negativo - caracterizado pela ausência de coloração fluorescente no cinetoplasto. Coloração apenas do núcleo e/ou coloração do corpo basal devem ser interpretadas como um teste negativo.
 - b. Controle positivo - caracterizado por qualquer coloração fluorescente verde-ama-vela do cinetoplasto. A coloração do corpo basal **juntamente com** o cinetoplasto deve ser considerada um resultado positivo.
3. Controles adicionais podem ser testados de acordo com as diretrizes ou requisitos das regulamentações locais, estaduais e/ou federais ou de organizações de acreditação.

OBSERVAÇÕES:

- a. **A intensidade da fluorescência observada pode variar com o microscópio e o sistema de filtros utilizados.**
- b. **O cinetoplasto geralmente está localizado mais próximo do corpo basal do que do núcleo; no entanto, devido à natureza fluida do endoplasma, a localização do cinetoplasto pode variar de célula para célula (36).**
- c. **Leia apenas organismos únicos e bem definidos em cada campo. Nem todos os organismos aparecerão de forma ideal; a morfologia pode variar entre os organismos devido à fixação, seus estágios de crescimento e/ou sua orientação na lâmina enquanto secavam (36).**

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

1. Títulos inferiores a 1:10 são considerados negativos.
2. Teste Positivo: Qualquer coloração verde-maçã observada do pequeno cinetoplasto do organismo *Crithidia l.* substrato, a uma diluição de 1:10 com base em uma escala de 1+ a 4+. 1+ é considerada uma reação fraca e 4+ uma reação forte.
3. Para resultados semi-quantitativos, todos os soros positivos a 1:10 devem ser titulados até a diluição de término. Isso é realizado fazendo uma diluição seriada de 1:10, 1:20, 1:40, etc., de todas as amostras de pacientes positivas. O ponto final é a maior diluição que produz uma reação positiva.
4. A coloração tanto do pequeno cinetoplasto quanto do maior núcleo adjacente de * *Crithidia l.* * simultaneamente deve ser interpretada como um teste positivo.
5. A coloração polar na base do flagelo não é significativa.
6. A coloração apenas do núcleo não deve ser interpretada como um teste positivo.

LIMITAÇÕES DA ANÁLISE

1. O kit DNA de cadeia dupla (*Crithidia l.*) é um auxílio diagnóstico. Portanto, é imperativo que os resultados do anticorpo anti-DNA de cadeia dupla sejam interpretados à luz da condição clínica do paciente por uma autoridade médica.
2. Pacientes com LES em tratamento com esteroides podem ter resultados negativos no teste (5, 8 e 9).
3. Alguns medicamentos, particularmente a hidralazina, podem induzir a produção de anticorpos contra o DNA de cadeia dupla (5, 6 e 8).

RESULTADOS ESPERADOS

Os valores esperados em uma população normal são negativos na diluição inicial de 1:10. No entanto, certos medicamentos podem induzir um teste positivo para anticorpos anti-DNA de cadeia dupla (5, 6).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

OBSERVAÇÃO: Ao estabelecer as Características de Desempenho do kit dsDNA (*Crithidia l.*), os slides foram interpretados utilizando três métodos diferentes conforme descrito abaixo:

Método de interpretação:
Método A. O Método A era um método de interpretação totalmente manual. Foi realizado utilizando um microscópio fluorescente tradicional equipado com lentes objetivas e oculares. A determinação do resultado qualitativo foi realizada por técnicos de laboratório treinados.
Método B. O Método B foi realizado digitalizando as lâminas usando o diFine® e, em seguida, um técnico de laboratório treinado interpretou os resultados qualitativos utilizando a imagem digital exibida no monitor do computador.
Método C. O Método C é o resultado sugerido previsto pelo diFine®; o Método C prevê o resultado qualitativo. Se o Método C for "UNC" (incerto), o nível de fluorescência medido pelo diFine é limítrofe entre positivo e negativo, ou outros elementos dentro do poço da lâmina impediram uma sugestão definitiva. O Método C deve ser "validado" ou aceito pelo técnico de laboratório, ou modificado ou invalidado completamente. Para os fins deste estudo e os dados apresentados abaixo, o Método C é registrado "COMO ESTÁ", sem qualquer modificação pelo(s) técnico(s) de laboratório. Portanto, é apresentado <i>apenas para fins informativos</i> .

1. Estudos de Desempenho Analítico:

a. Linearidade:

Foram identificadas duas amostras de soro com baixa positividade (~1:10-1:20 de diluição de término), duas amostras de soro com média positividade (~1:40-1:80 de diluição de término) e duas amostras de soro com alta positividade (\geq 1:320 de diluição de término). As seis amostras foram testadas com uma diluição de triagem de 1:10, bem como com diluições seriadas variando de 1:20 a 1:5120, sendo interpretadas por todos os três métodos mencionados acima. Este estudo foi realizado internamente pelo fabricante. Os pontos finais para cada amostra e cada método são apresentados abaixo:

Amostra	Método A	Método B	Método C
Baixo Positivo-1	1:10	1:20	1:20
Baixo Positivo-2	1:20	1:40	1:40*
Médio Positivo-1	1:40	1:80	1:80
Médio Positivo-2	1:40	1:80	1:80
Alto Positivo-1	1:640	1:640	1:640
Alto Positivo-2	1:640	1:640	1:640

* 1 resultado UNC na diluição 1:80 para a amostra Baixo Positivo-2 foi contado como Negativo

Amostra	Método A	Método B	Método C
Baixo Positivo-1	1:10	1:20	1:20
Baixo Positivo-2	1:20	1:40	1:80**
Médio Positivo-1	1:40	1:80	1:80
Médio Positivo-2	1:40	1:80	1:80
Alto Positivo-1	1:640	1:640	1:640
Alto Positivo-2	1:640	1:640	1:640

** 1 resultado UNC na diluição 1:80 para a amostra Baixo Positivo-2 foi contado como Positivo.

Para os Métodos A e B, a intensidade de fluorescência foi registrada em cada diluição usando uma escala de 4, sendo muito intensa, e 0, indicando ausência de fluorescência. As diluições das amostras e as intensidades de fluorescência associadas estão resumidas nas tabelas abaixo:

ID da Amostra	Descrição	Intensidade de fluorescência (4+ a 0); método A									
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
1	Baixo Positivo	1	0	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
2	Baixo Positivo	2	1	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
3	Médio Positivo	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
4	Médio Positivo	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0
5	Alto Positivo	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
6	Alto Positivo	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0

NT: Não testado

ID da Amostra	Descrição	Intensidade de fluorescência (4+ a 0); método A									
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120
1	Baixo Positivo	1	1	0	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
2	Baixo Positivo	2	1	1	0	0	NT	NT	NT	NT	NT
3	Médio Positivo	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
4	Médio Positivo	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
5	Alto Positivo	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0
6	Alto Positivo	4	3	3	2	2	1	1	0	0	0

NT: Não testado

b. Reprodutibilidade de Lote para Lote:

Nove amostras de soro negativas, duas amostras de soro com baixo positivo (~1:10-1:20 de término), duas amostras de soro com positivo médio (~1:40-1:80 de término) e duas amostras de soro com forte positivo (\geq 1:320 de término) foram identificadas. Este grupo de 15 amostras foi analisado com uma diluição de triagem de 1:10. Para as 6 amostras positivas, diluições seriais adicionais variando de 1:20 a 1:5120 também foram analisadas e interpretadas por todos os três métodos mencionados acima, com o objetivo de determinar o título no término.

Resultados:

i. Concordância Qualitativa: Houve 100% de concordância nos resultados qualitativos na diluição de triagem de todas as 15 amostras entre os 3 lotes do kit, para os métodos de interpretação A e B. Para o lote 3, obteve-se 1 resultado UNC por meio do método de interpretação C na diluição de triagem de 1:10, para uma das amostras de Baixo Positivo.

ii. Concordância de Título no Término: Todas as 6 amostras positivas apresentaram os mesmos títulos de término \pm uma diluição, independentemente do lote do kit de reagente ou do método de interpretação.

c. Estudo de Intervalo de Referência:

Cento e oitenta amostras de soro aleatórias foram adquiridas de doadores saudáveis no Nordeste dos Estados Unidos. As amostras foram analisadas na diluição de triagem de 1:10 e interpretadas por todos os três métodos. Os resultados do teste de triagem estão resumidos abaixo:

Método de Interpretação	Número de Positivos	% Positivos	Número de negativos	% Negativos	Número de incertos	% Incertos
A	2	1,11%	178	98,89%	N/A	N/A
B	2	1,11%	178	98,89%	N/A	N/A
C	1	0,56%	176	97,78%	3	1,67%

d. Estudo de Repetibilidade de Vinte Dias:

Foram identificadas duas amostras de soro negativas, duas amostras de soro com baixo positivo (~1:10-1:20 de término), duas amostras de soro com positivo médio (~1:40-1:80 de término) e duas amostras de soro com positivo forte (\geq 1:320 de término). Essas oito amostras foram analisadas em triplicata na diluição de triagem de 1:10, em vinte dias diferentes. Os resultados qualitativos foram interpretados por dois técnicos para os Métodos A e B, e por um único instrumento dIFine para o Método C. As identidades das amostras foram mascaradas e randomizadas de forma independente antes de cada dia de teste.

Os valores de concordância dos resultados qualitativos para a avaliação de repetibilidade dentro do método estão apresentados nas tabelas abaixo e também resumidos da seguinte forma: Houve 100% de concordância nos resultados qualitativos dentro do método para todas as oito amostras quando interpretadas pelos Métodos A e B, para ambos os técnicos. Para o Método C, a amostra média positiva-1, a amostra alta positiva-2 e ambas as amostras negativas apresentaram 100% de concordância nos resultados qualitativos dentro do método. A amostra baixa positiva-1, a amostra baixa positiva-2, a amostra média positiva-2 e a amostra alta positiva-1 apresentaram valores de concordância nos resultados qualitativos dentro do método de 96,7%, 98,3%, 98,3% e 95,0%, respectivamente. Para as amostras que apresentaram menos de 100% de concordância dentro do método, todos os resultados foram rotulados como "UNC" (incerto) nas interpretações do Método C.

Concordância dos Resultados Qualitativos Dentro do Método (Técnico 1)

Amostra	Concordância do Método A (IC de 95%)	Concordância do Método B (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Baixo Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Alto Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Alto Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo- 1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)

Concordância do Resultado Qualitativo Dentro do Método (Técnico 2)

Amostra	Concordância do Método A (IC de 95%)	Concordância do Método B (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Baixo Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Alto Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Alto Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo- 1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)

Concordância do Resultado Qualitativo Dentro do Método (n = 2 Técnicos C)

Amostra	Títuloção do Término	Concordância do Método A (IC de 95%)	Concordância do Método B (IC de 95%)
Negativo- 1	N/A	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Negativo-2	N/A	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Baixo Positivo-1	1:10-1:20	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Baixo Positivo-2	1:20 - 1:40	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Médio Positivo-1	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Médio Positivo-2	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Alto Positivo-1	1:320 - 1:640	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Alto Positivo-2	1:160 - 1:320	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)

Amostra	Concordância do Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	96,7% (88,6 - 99,1%)
Baixo Positivo-2	98,3% (91,1 - 99,7%)
Médio Positivo-1	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-2	98,3% (91,1 - 99,7%)
Alto Positivo-1	95,0% (86,3 - 98,3%)
Alto Positivo-2	100% (88,7 - 100%)
Negativo- 1	100% (88,7 - 100%)
Negativo-2	100% (88,7 - 100%)

Os valores de concordância dos resultados qualitativos para a avaliação de repetibilidade entre métodos estão apresentados nas tabelas abaixo e também resumidos da seguinte forma: Houve 100% de concordância dos resultados qualitativos dentro do método para todas as oito amostras quando interpretadas pelo Método A versus Método B, para ambos os técnicos. Quando o Método A e o Método B foram comparados ao Método C, a amostra de positivo médio-1, a amostra de positivo alto-2 e ambas as amostras negativas resultaram em 100% de concordância dos resultados qualitativos entre os métodos. A amostra de baixo positivo-1, a amostra de baixo positivo-2, a amostra de positivo médio-2 e a amostra de positivo alto-1 resultaram em valores de concordância dos resultados qualitativos entre os métodos de 96,7%, 98,3%, 98,3% e 95,0%, respectivamente. Para as amostras que apresentaram menos de 100% de concordância entre os métodos, todos os resultados foram classificados como "UNC" (incertos) nas interpretações do Método C.

Concordância Qualitativa Entre Métodos (Técnico 1)

Amostra	Concordância entre Método A e Método B (IC 95%)	Concordância entre Método A e Método C (IC 95%)	Concordância entre Método B e Método C (IC 95%)
Baixo Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	96,7% (88,6 - 99,1%)	96,7% (88,6 - 99,1%)
Baixo Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	98,3% (91,1 - 99,7%)	98,3% (91,1 - 99,7%)
Médio Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	98,3% (91,1 - 99,7%)	98,3% (91,1 - 99,7%)
Alto Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	95,0% (86,3 - 98,3%)	95,0% (86,3 - 98,3%)
Alto Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo- 1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)

Concordância de Resultados Qualitativos entre Métodos (Técnico 2)

Amostra	Concordância entre Método A e Método B (IC 95%)	Concordância entre Método A e Método C (IC 95%)	Concordância entre Método B e Método C (IC 95%)
Baixo Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	96,7% (88,6 - 99,1%)	96,7% (88,6 - 99,1%)
Baixo Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	98,3% (91,1 - 99,7%)	98,3% (91,1 - 99,7%)
Médio Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Médio Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	98,3% (91,1 - 99,7%)	98,3% (91,1 - 99,7%)
Alto Positivo-1	100% (88,7 - 100%)	95,0% (86,3 - 98,3%)	95,0% (86,3 - 98,3%)
Alto Positivo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo- 1	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)
Negativo-2	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)	100% (88,7 - 100%)

Concordância Qualitativa entre Métodos (n = 2 Técnicos Combinados)

Amostra	Títuloção do Término	Concordância entre Método A e Método B (IC 95%)	Concordância entre Método A e Método C (IC 95%)	Concordância entre Método B e Método C (IC 95%)
Negativo- 1	N/A	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Negativo-2	N/A	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Baixo Positivo-1	1:10-1:20	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	116/120 = 96,7% (91,7 - 98,7%)	116/120 = 96,7% (91,7 - 98,7%)
Baixo Positivo-2	1:20 - 1:40	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	118/120 = 98,3% (94,1 - 99,5%)	118/120 = 98,3% (94,1 - 99,5%)
Médio Positivo-1	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)
Médio Positivo-2	1:40 - 1:80	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	118/120 = 98,3% (94,1 - 99,5%)	118/120 = 98,3% (94,1 - 99,5%)
Alto Positivo-1	1:320 - 1:640	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	114/120 = 95% (89,5 - 97,7%)	114/120 = 95% (89,5 - 97,7%)
Alto Positivo-2	1:160 - 1:320	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)	120/120 = 100% (96,9 - 100%)

e. Estudo de Reprodutibilidade de Cinco Dias em Múltiplos Locais:

Foram identificadas duas amostras de soro negativas, duas amostras de soro com baixo positivo (~1:10-1:20 de término), duas amostras de soro com positivo médio (~1:40-1:80 de término) e duas amostras de soro com positivo forte (\geq 1:320 de término). Essas oito amostras foram analisadas em uma diluição inicial de 1:10, em triplicata, duas vezes por dia, durante cinco dias diferentes, em três laboratórios distintos. Os resultados qualitativos foram interpretados por dois técnicos em cada laboratório para os Métodos A e B, e por um único instrumento dIFine em cada laboratório para o Método C. As identidades das amostras foram ocultadas e aleatoriamente distribuídas de forma independente antes de cada dia de teste.

Os resultados do acordo qualitativo estão apresentados abaixo:

i. Concordância dos Resultados Qualitativos

a. Dentro do Método

Local 1 - Concordância Qualitativa Dentro do Método (Técnico 1)

Amostra	Método A (IC 95%)	Método B (IC 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 1 - Concordância qualitativa dentro do método (Técnico 2)

Amostra	Método A (IC 95%)	Método B (IC 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 1 - Concordância qualitativa dentro do método

Amostra	Método C (IC 95%)
Baixo Positivo-1	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Baixo Positivo-2	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Negativo- 1	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)

Local 2 - Concordância qualitativa dentro do método (Técnico 1)

Amostra	Método A (IC 95%)	Método B (IC 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 2 - Concordância qualitativa dentro do método (Técnico 2)

Amostra	Método A (IC 95%)	Método B (IC 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 2 - Concordância qualitativa dentro do método

Amostra	Método C (IC 95%)
Baixo Positivo-1	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Baixo Positivo-2	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 3 - Concordância qualitativa dentro do método (Técnico 1)

Amostra	Método A (IC 95%)	Método B (IC 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 3 - Concordância qualitativa dentro do método (Técnico 2)

Amostra	Método A (IC 95%)	Método B (IC 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 3 - Concordância qualitativa dentro do método

Amostra	Método C (IC 95%)
Baixo Positivo-1	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Baixo Positivo-2	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Alto Positivo-1	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

b. Entre Métodos:

Local 1 - Concordância qualitativa entre métodos (Técnico 1)

Amostra	Método A vs Método B (IC de 95%)	Método A vs Método C (IC de 95%)	Método B vs Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)

Local 1 - Concordância qualitativa entre métodos (Técnico 2)

Amostra	Método A vs Método B (IC de 95%)	Método A vs Método C (IC de 95%)	Método B vs Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)

Local 2 - Concordância qualitativa entre métodos (Técnico 1)

Amostra	Método A vs Método B (IC de 95%)	Método A vs Método C (IC de 95%)	Método B vs Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 2 - Concordância qualitativa entre métodos (Técnico 2)

Amostra	Método A vs Método B (IC de 95%)	Método A vs Método C (IC de 95%)	Método B vs Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)	28/30 - 93,33% (78,68 - 98,15%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 3 - Concordância qualitativa entre métodos (Técnico 1)

Amostra	Método A vs Método B (IC de 95%)	Método A vs Método C (IC de 95%)	Método B vs Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)	26/30 - 86,67% (70,32 - 94,69%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Local 3 - Concordância qualitativa entre métodos (Técnico 2)

Amostra	Método A vs Método B (IC de 95%)	Método A vs Método C (CI de 95%)	Método B vs Método C (IC de 95%)
Baixo Positivo-1	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)	26/30 - 86,67% (70,32 - 94,69%)
Baixo Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Médio Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Médio Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)	27/30 - 90,00% (74,38 - 96,54%)
Alto Positivo-1	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Alto Positivo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)
Negativo- 1	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	29/30 - 96,67% (83,33 - 99,41%)
Negativo-2	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)	30/30 - 100% (88,65 - 100,00%)

Se combinar todas as oito amostras, resultando em 240 resultados, os resultados qualitativos também podem ser resumidos da seguinte forma:

Reprodutibilidade de Múltiplos Locais do Método A

Resultados qualitativos de três locais e dois técnicos por local, comparando local a local e técnico a técnico.

			Local 1		Local 2		Local 3	
			Técnico 1	Técnico 2	Técnico 1	Técnico 2	Técnico 1	Técnico 2
			Método A		Método A		Método A	
Local 1	Técnico 1	Método A		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)
	Técnico 2			240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	
Local 2	Técnico 1	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		
	Técnico 2	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		
Local 3	Técnico 1	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		
	Técnico 2	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		

Reprodutibilidade de Múltiplos Locais do Método B

Resultados qualitativos de três locais e dois técnicos por local, comparando local a local e técnico a técnico.

			Local 1		Local 2		Local 3	
			Técnico 1	Técnico 2	Técnico 1	Técnico 2	Técnico 1	Técnico 2
			Método B		Método B		Método B	
Local 1	Técnico 1	Método B		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)
	Técnico 2			240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)	
Local 2	Técnico 1	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)		
	Técnico 2	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)	238/240 - 99,17% (97,01 - 99,77)		
Local 3	Técnico 1	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		
	Técnico 2	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)	240/240 - 100% (98,42 - 100,00)		

Reprodutibilidade de Múltiplos Locais do Método C comparando local a local

		Local 1	Local 2	Local 3
		Método C		
Local 1	Método C		227/240 - 94,58% (90,95 - 96,81)	230/240 - 95,83% (92,50 - 97,72)
Local 2			231/240 - 96,25% (93,03 - 98,01)	
Local 3				

f. Estudo de Interferência:

Foram identificadas duas amostras de soro negativas, duas amostras de soro com baixo positivo (~1:10-1:20 de término), duas amostras de soro com positivo médio (~1:40-1:80 de término) e duas amostras de soro com positivo forte (\geq 1:320 de término). Essas 8 amostras foram enriquecidas com duas concentrações diferentes (enriquecimento baixo e enriquecimento alto) de dezenove interferentes diferentes, conforme descrito na tabela abaixo. Todas as amostras foram analisadas em triplicata pelo kit de DNA de cadeia dupla (Crithidia I.) e interpretadas pelos três métodos mencionados acima. Os resultados qualitativos foram interpretados por dois técnicos para os Métodos A e B, e por um único instrumento diFine para o Método C.

Substâncias Endógenas		
Substância	Baixa Concentração	Alta Concentração
Bilirrubina (não conjugada)	0,02 mg/mL	0,15 mg/mL
Colesterol (total)	1,5 mg / mL	2,2 mg/mL
Triglicerídeos (total)	1 mg/mL	2,5 mg/mL
Albumina	35 mg/mL	52 mg/mL
Hemoglobina	100 mg/ml	200 mg/mL
RF	200 U/ml	400 U/mL
Substâncias Exógenas		
Substância	Baixa Concentração	Alta Concentração
Intralipídios	2,0 mg/ml	20 mg/mL
Ciclofosfamida	0,183 mg/mL	0,549 mg/mL
Ibuprofeno	0,073 mg/ml	0,219 mg/ml
Hidroxicloroquina	0,006 mg/mL	0,024 mg/mL
Sinvastatina	0,0000277 mg/mL	0,000083 mg/ml
Prednisona	0,000033 mg/mL	0,000099 mg/mL
Azatioprina	0,00086 mg/mL	0,00258 mg/mL
Diltiazem	0,0003 mg/mL	0,0009 mg/mL
Micofenolato de mofetila	0,012 mg/mL	0,048 mg/mL
Rituximabe	0,5 mg/mL	2 mg/mL
Belimumabe	2 mg/mL	8 mg/mL
Metotrexato	0,454 mg/mL	1,36 mg/mL
Naproxeno	0,12 mg/mL	0,36 mg/mL
Enalapril	Não testado	819 ng/mL
Voclosporina	Não testado	210 ng/mL

Nenhum dos interferentes afetou os resultados esperados de quaisquer amostras quando lidas pelos Métodos A e B. Quando as combinações de interferentes/amostras foram testadas, o Método C gerou resultados incertos em várias amostras: amostra 'baixo negativo-2' enriquecida com alta concentração de ciclofosfamida, amostra 'baixo positivo-2' enriquecida com concentrações baixa e alta de hidroxicloroquina, amostra 'médio positivo-2' enriquecida com baixa concentração de azatioprina e alta concentração de bilirrubina, amostra 'alto positivo-1' enriquecida com baixa concentração de triglicerídeos e alta concentração de albumina. No geral, pode-se concluir que o kit de DNA de cadeia dupla (Crithidia I.) não está em risco de gerar resultados errôneos devido à presença dos interferentes testados.

2. Design do Estudo de Desempenho Clínico:

As 660 amostras clinicamente caracterizadas que foram utilizadas estão descritas na tabela abaixo. Essas 660 amostras foram alíquotadas, codificadas, randomizadas e avaliadas em uma diluição de triagem 1:10 por meio do kit de DNA de cadeia dupla (Crithidia I.), em conjunto com o sistema de microscopia automatizada diFine®, em três laboratórios independentes. Os resultados qualitativos foram interpretados por dois técnicos em cada laboratório para os Métodos A e B, e por um único instrumento diFine® em cada laboratório para o Método C. As amostras positivas por meio dos Métodos de Interpretação A e B na diluição de triagem 1:10 foram, posteriormente, diluídas em série para determinar a diluição de término por meio de todos os três métodos de interpretação.

Para cada laboratório, os resultados foram utilizados para avaliar a especificidade clínica (potencial reatividade cruzada), sensibilidade clínica, concordância qualitativa entre os métodos de interpretação e concordância da titulação de término entre os métodos de interpretação.

Doença Alvo		n	
Lupus Eritematoso Sistêmico		300	
Controle de Doenças	Doenças Associadas ao ANA	n	
	<i>Doenças do Tecido Conjuntivo</i>	Síndrome de Sjögren	30
		Esclerodermia	20
		Miosite autoimune	30
		Doença Mista do Tecido Conjuntivo (DMTC)	20
		CREST (Calcificação, Raynaud, Esôfago, Esclerodactilia e Telangiectasia)	20
	<i>Outras Doenças Autoimunes Associadas ao ANA</i>	Hepatite Autoimune	20
		Colangite Biliar Primária	10
		Lúpus Induzido por Medicamentos	20
	Doenças Não Associadas ao ANA	n	
	<i>Outras Doenças Autoimunes</i>	Doença Celíaca	20
		Vasculite (ANCA)	30
		Doença de Crohn	10
		Artrite Reumatoide	30
		Tireoidite Autoimune	30
		Doença Inflamatória Intestinal	10
		Colite Ulcerativa	10
<i>Outras Doenças</i>	Fibromialgia	10	
	Doença Infecciosa	20	
	Neoplasia/Câncer	20	
Total:		660	

3. Sensibilidade Clínica e Especificidade Clínica:

A sensibilidade clínica foi calculada em cada local usando os resultados qualitativos derivados das amostras de Lúpus Eritematoso Sistêmico (n = 300). A especificidade foi calculada a partir do conjunto combinado de resultados qualitativos derivados das amostras de controle de doenças (n = 360)

a. Desempenho Clínico no Local 1

Sensibilidade e Especificidade Diagnóstica			LES (n = 300)	Controle de Doenças (n = 360)
			% Sensibilidade (IC 95%)	% de Especificidade (IC de 95%)
Local 1	Método A	Técnico A	26,67 (21,98 - 31,94)	99,17 (97,58 - 99,72)
	Método A	Técnico B	27,00 (22,29 - 32,29)	99,72 (98,44 - 99,95)
	Método B	Técnico A	26,67 (21,98 - 31,94)	99,17 (97,58 - 99,72)
	Método B	Técnico B	27,00 (22,29 - 32,29)	99,44 (98,00 - 99,85)
	Método C	dIFine	27,00 (22,29 - 32,29)	99,17 (97,58 - 99,72)

b. Desempenho Clínico no Local 2

Sensibilidade e Especificidade Diagnóstica			LES (n = 300)	Controle de Doenças (n = 360)
			% Sensibilidade (IC 95%)	% de Especificidade (IC de 95%)
Local 2	Método A	Técnico A	24,33 (19,82 - 29,49)	99,72 (98,44 - 99,95)
	Método A	Técnico B	25,00 (20,44 - 30,20)	99,17 (97,58 - 99,72)
	Método B	Técnico A	25,00 (20,44 - 30,20)	99,72 (98,44 - 99,95)
	Método B	Técnico B	24,33 (19,82 - 29,49)	99,17 (97,58 - 99,72)
	Método C	dIFine	22,33 (17,99 - 27,38)	99,17 (97,58 - 99,72)

c. Desempenho Clínico no Local 3

Sensibilidade e Especificidade Diagnóstica			LES (n = 300)	Controle de Doenças (n = 360)
			% Sensibilidade (IC 95%)	% de Especificidade (IC de 95%)
Local 3	Método A	Técnico A	25,33 (20,74 - 30,55)	98,89 (97,18 - 99,57)
	Método A	Técnico B	25,67 (21,05 - 30,90)	99,17 (97,58 - 99,72)
	Método B	Técnico A	25,33 (20,74 - 30,55)	97,78 (95,68 - 98,87)
	Método B	Técnico B	25,67 (21,05 - 30,90)	97,50 (95,32 - 98,68)
	Método C	dIFine	24,33 (19,82 - 29,49)	97,50 (95,32 - 98,68)

Os valores de sensibilidade para a coorte de LES variaram de 22,33% a 27,0% em todos os três métodos e em todos os três locais. A percentagem de positividade observada na coorte de LES pareceu ser menor do que o esperado; no entanto, estava alinhada com

os resumos da FDA 510k de dispositivos similares. A menor percentagem de positividade pode ser devido a uma variedade de fatores dependentes do paciente no momento da coleta do soro, como: presença de tratamentos imunossupressores fortes, baixa atividade da doença ou remissão da doença. A percentagem de positividade dentro dessa coorte de LES foi ainda confirmada utilizando outro produto IFA anti-dsDNA Crithidia I. aprovado pela FDA. A especificidade clínica entre a coorte de Doenças de Controle variou de 97,5% a 99,72% em todos os três métodos, em todos os três locais. Se for feita uma média de todos os métodos de interpretação em todos os três locais, a sensibilidade clínica no grupo de LES foi, em média, 25,44%, e a especificidade clínica no grupo de Doenças de Controle foi, em média, 99,06%.

4. Comparações dos Métodos de Interpretação

Foram testadas 660 amostras clínicas em todos os três locais clínicos. Considerando as interpretações registradas em todos os três locais para essas 660 amostras, houve um total de 3.960 ocasiões em que foi possível comparar os resultados do Método A versus Método B, Método A versus Método C, e Método B versus Método C. Um resumo dessas comparações qualitativas aparece nas tabelas abaixo:

a. Comparação Qualitativa Método A vs Método B

Método A vs Método B		Concordância de Amostras Positivas (IC de 95%)	Concordância de Amostra Negativa (IC 95%)	Concordância de Amostras Totais (IC de 95%)
Local 1	Técnico A	83/83, 100,00% (95,58 - 100,00)	577/577, 100,00% (99,34 - 100,00)	660/660, 100,00% (99,42 - 100,00)
	Técnico B	81/82, 98,78% (93,41 - 99,78)	576/578, 99,65% (98,75 - 99,91)	657/660, 99,55% (98,67 - 99,85)
Local 2	Técnico A	74/74, 100,00% (95,07 - 100,00)	584/586, 99,66% (98,76 - 99,91)	658/660, 99,70% (98,90 - 99,92)
	Técnico B	76/78, 97,44% (91,12 - 99,29)	582/582, 100,00% (99,34 - 100,00)	658/660, 99,70% (98,90 - 99,92)
Local 3	Técnico A	80/80, 100,00% (95,42 - 100,00)	576/580, 99,31% (98,24 - 99,73)	656/660, 99,39% (98,45 - 99,76)
	Técnico B	80/80, 100,00% (95,42 - 100,00)	574/580, 98,97% (97,76 - 99,53)	654/660, 99,09% (98,03 - 99,58)

b. Concordância Qualitativa Combinada para Método A vs Método B Todos os Locais/Todos os Técnicos

		Método A	
		Positivo	Negativo
Método B	Positivo	474	14
	Negativo	3	3469
Concordância Percentual Positiva =		99,37% (474/477)	Intervalo de Confiança de 95% = 98,17 - 99,79%
Concordância Percentual Negativa =		99,60% (3469/3483)	Intervalo de Confiança de 95% = 99,33 - 99,76%
Concordância Percentual Total =		99,57% (3943/3960)	Intervalo de confiança de 95% = 99,31 - 99,73%

c. Comparação Qualitativa Método A vs Método C

Para as comparações entre o Método A e o Método C, esses cálculos foram realizados duas vezes: uma assumindo que todos os resultados do Método C que foram UNC foram considerados como "negativos" e outra assumindo que todos os resultados do Método C que foram UNC foram considerados como positivos.

Método vs Método C (UNC = Neativo)		Concordância de Amostras Positivas (95% CI)	Concordância de Amostras Negativas (95% CI)	Concordância Total de Amostras (95% CI)
Passo 1	Técnico A	79/83, 95.18% (88.25 - 98.11)	572/577, 99.13% (97.99 - 99.63)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
	Técnico B	77/82, 93.90% (86.51 - 97.37)	571/578, 98.79% (97.52 - 99.41)	648/660, 98.18% (96.85 - 98.96)
Passo 2	Técnico A	68/74, 91.89% (83.42 - 96.23)	585/586, 99.83% (99.04 - 99.97)	653/660, 98.94% (97.83 - 99.49)
	Técnico B	69/78, 88.46% (79.50 - 93.81)	582/582, 100.00% (99.34 - 100.00)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
Passo 3	Técnico A	77/80, 96.25% (89.55 - 98.72)	580/580, 100.00% (99.34 - 100.00)	657/660, 99.55% (98.67 - 99.86)
	Técnico B	76/80, 95.00% (87.84 - 98.04)	579/580, 99.83% (99.03 - 99.97)	655/660, 99.24% (98.24 - 99.68)

Método vs Método C (UNC = Negativo)		Concordância de Amostras Positivas (95% CI)	Concordância de Amostras Negativas (95% CI)	Concordância Total de Amostras (95% CI)
Passo 1	Técnico A	81/83, 97.59% (91.63 - 99.34)	568/577, 98.44% (97.06 - 99.18)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
	Técnico B	79/83, 95.18% (88.25 - 98.11)	567/578, 98.10% (96.63 - 98.93)	646/660, 97.88% (96.47 - 98.73)
Passo 2	Técnico A	73/74, 98.65% (92.73 - 99.76)	577/586, 98.46% (97.11 - 99.19)	650/660, 98.48% (97.23 - 99.17)
	Técnico B	76/78, 97.44% (91.13 - 99.29)	576/582, 98.97% (97.77 - 99.53)	652/660, 98.79% (97.63 - 99.38)
Passo 3	Técnico A	78/80, 97.50% (91.34 - 99.31)	571/580, 98.45% (97.08 - 99.18)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
	Técnico B	77/80, 96.25% (89.55 - 98.72)	570/580, 98.28% (96.86 - 99.06)	647/660, 98.03% (96.66 - 98.85)

d. Concordância Qualitativa Combinada para Método A vs Método C Todos os Locais/Todos os Técnicos

		Método A	
		Positivo	Negativo
Método C se UNC = Negativo	Positivo	446	14
	Negativo	31	3469

Concordância Percentual Positiva = 93.50% (446/477) Intervalo de Confiança de 95% = 90.92 - 95.38%
 Concordância Percentual Negativa = 99.60% (3469/3483) Intervalo de Confiança de 95% = 99.33 - 99.76%
 Concordância Percentual Total = 98.31% (3893/3960) Intervalo de Confiança de 95% = 97.86 - 98.66%

		Método A	
		Positivo	Negativo
Método C se UNC = Negativo	Positivo	464	54
	Negativo	13	3429

Concordância Percentual Positiva = 97.27% (464/477) Intervalo de Confiança de 95% = 95.39 - 98.40%
 Concordância Percentual Negativa = 98.45% (3429/3483) Intervalo de Confiança de 95% = 97.98 - 98.81%
 Concordância Percentual Total = 98.31% (3893/3960) Intervalo de Confiança de 95% = 97.86 - 98.66%

e. Comparação Qualitativa Método B vs Método C

Para as comparações entre o Método B e o Método C, esses cálculos foram realizados duas vezes: uma assumindo que todos os resultados do Método C que foram UNC foram considerados como "negativos" e outra assumindo que todos os resultados do Método C que foram UNC foram considerados como positivos.

Método vs Método C (UNC = Negativo)		Concordância de Amostras Positivas (95% CI)	Concordância de Amostras Negativas (95% CI)	Concordância Total de Amostras (95% CI)
Passo 1	Técnico A	79/83, 95.18% (88.25 - 98.11)	572/577, 99.13% (97.99 - 99.63)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
	Técnico b	78/83, 93.98% (86.66 - 97.40)	571/577, 98.96% (97.75 - 99.52)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
Passo 2	Técnico A	68/76, 89.47% (80.58 - 94.57)	583/594, 99.83% (99.04 - 99.97)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
	Técnico b	69/76, 90.79% (82.19 - 95.47)	584/584, 100.00% (99.35 - 100.00)	653/660, 98.94% (97.83 - 99.49)
Passo 3	Técnico A	77/84, 91.67% (83.78 - 95.90)	576/576, 100.00% (99.34 - 100.00)	653/660, 98.94% (97.83 - 99.49)
	Técnico b	77/86, 89.53% (81.29 - 94.40)	574/574, 100.00% (99.34 - 100.00)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)

Método vs Método C (UNC = Negativo)		Concordância de Amostras Positivas (95% CI)	Concordância de Amostras Negativas (95% CI)	Concordância Total de Amostras (95% CI)
Passo 1	Técnico A	81/83, 97.59% (91.63 - 99.34)	568/577, 98.44% (97.06 - 99.18)	649/660, 98.33% (97.04 - 99.07)
	Técnico b	80/83, 96.39% (89.90 - 98.76)	567/577, 98.27% (96.84 - 99.06)	647/660, 98.03% (96.66 - 98.85)
Passo 2	Técnico A	74/76, 97.37% (90.90 - 99.28)	576/584, 98.63% (97.32 - 99.30)	650/660, 98.48% (97.23 - 99.17)
	Técnico b	75/76, 98.68% (92.92 - 99.77)	577/584, 98.80% (97.55 - 99.42)	652/660, 98.79% (97.63 - 99.38)
Passo 3	Técnico A	81/84, 96.43% (90.02 - 98.78)	570/576, 98.96% (97.75 - 99.52)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)
	Técnico b	82/86, 95.35% (88.64 - 98.18)	569/574, 99.13% (97.98 - 99.63)	651/660, 98.64% (97.43 - 99.28)

f. Concordância Qualitativa Combinada para Método B vs Método C Todos os Locais/Todos os Técnicos

		Método A	
		Positivo	Negativo
Método C se UNC = Negativo	Positivo	448	12
	Negativo	40	3460

Concordância Percentual Positiva = 91.80% (448/488) Intervalo de Confiança de 95% = 89.03 - 93.92%
 Concordância Percentual Negativa = 99.65% (3460/3472) Intervalo de Confiança de 95% = 99.40 - 99.80%
 Concordância Percentual Total = 98.69% (3908/3960) Intervalo de Confiança de 95% = 98.28 - 99.00%

		Método b	
		Positivo	Negativo
Método C se UNC = Negativo	Positivo	473	45
	Negativo	15	3427

Concordância Percentual Positiva = 96.93% (473/488) Intervalo de Confiança de 95% = 94.99 - 98.13%
 Concordância Percentual Negativa = 98.70% (3427/3472) Intervalo de Confiança de 95% = 98.27 - 99.03%
 Concordância Percentual Total = 98.48% (3900/3960) Intervalo de Confiança de 95% = 98.06 - 98.82%

Em todos os casos, a concordância qualitativa entre os métodos de interpretação foi bastante alta, indicando que os três métodos (microscópio manual, leitura digital do dIFine® e chamada automatizada do dIFine®) correlacionaram-se bem entre si e apresentaram poucas discrepâncias.

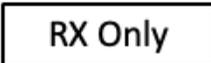
Tomados em conjunto, esses dados demonstram que a identificação automática pelo dIFine® (Método C) concorda com o Método A e/ou Método B (métodos de identificação não automatizados) para a grande maioria das amostras. No entanto, ainda é responsabilidade do operador treinado tomar a decisão final.

REFERÊNCIAS

1. Robbins WC, Holman HR, Deicher HRG, *et al*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:575, 1957.
2. Seligman M: Cr. Acad. Sci. (Paris), 245:243, 1957.
3. Ceppellini R, Polli E, Celada F: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:572, 1957.
4. Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG: J. Exp. Med. 109:97, 1959.
5. Dubois EL: J. Rheumatol. 2:204, 1975.
6. Epstein WV: J. Rheumatol. 2:215, 1975.
7. Blomgren SE: Seminars Rheumatol. 10:345, 1973.
8. Alarcon-Segovia D, Fishbein E: J. Rheumatol. 2:167, 1975.
9. Klajman A, Farkas R, Gold E, Ben-Efraim S: Clin. Immunol. Immunopath. 3:525, 1975.
10. Pincus T, Schur PH, Rose JA: N. Engl. J. Med. 281:701, 1969.
11. Koffler D, Carr RI, Agnello V, *et al*: Science 166:1648, 1969.
12. Gershwin ME, Steinberg AD: Arthritis. Rheum. 17:947, 1974.
13. Casals SP, Friou GJ, Myers LI: Arthritis. Rheum. 7:379, 1964.
14. Arana R, Seligmann M: J. Clin. Invest. 46:1867, 1967.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RI, *et al*: J. Clin. Invest. 45:1732, 1966.
16. Stollar D, Levine L, Leher HI, *et al*: Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 48:874, 1962.
17. Bosicevich J, Nasou JP, Kayhoe DE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:636, 1960.
18. Jokinen EJ, Julkunen H: Ann. Rheum. Dis. 24:477, 1965.
19. Matrer R, Helgeland SM, Tonder O: J. Immunol. Methods 5:345, 1974.
20. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: Clin. Exp. Immunol. 3:641, 1968.
21. Davis JS, IV: Arthritis. Rheum. 14:377, 1971.
22. Johnson GD, Edmonds JP, Holbrow EJ: Lancet 2:883, 1973.
23. Wold RT, Young FE, Tan EM, *et al*: Science 161:806, 1968.
24. Farr Rd: J. Infect. Dis. 103:239, 1958.
25. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG: J. Exp. Med. 126:607, 1967.
26. Harbeck RJ, Bardana EJ, Kohler PF, *et al*: J. Clin. Invest. 52:789, 1973.
27. Cohen SA, Hughes GRV, Noel GL, *et al*: Clin. Exp. Immunol. 8:551, 1971.
28. Natali PG, Tan EM: J. Clin. Invest. 51:345, 1972.
29. Aarden LA, deGroot ER, Feltkemp EW: Ann. NY Acad. Sci. 254:505, 1975.
30. Slater NGP, Cameron JS e Lessof MH: Clin. Exp. Immunol. 25:480, 1976.
31. Stingl G, Meingassner JG, Swelty P, *et al*: Clin. Immunol. Immunopath. 6:131, 1976.
32. Davis P, Christian B e Russel AS: J. Rheumatol. 4:15, 1977.
33. Tourville DR e Benn V: Microbiological Proceedings, 1977.
34. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Publicado pelo National Committee for Clinical Laboratory Standards.
35. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
36. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
37. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). Documento CLSI GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
38. Admou B, Eddehbi FE, Elmoumou L, Elmojadili S, Salami A, Oujidi M, Brahim I, Hazime R. Anti-double stranded DNA antibodies: A rational diagnostic approach in limited-resource settings. Pract Lab Med. 2022 Jun 3;31:e00285. doi: 10.1016/j.plabm.2022.e00285. PMID: 35711387; PMCID: PMC9192786.
39. Pan N, Amigues I, Lyman S, Duculan R, Aziz F, Crow MK, Kirou KA. A surge in anti-dsDNA titer predicts a severe lupus flare within six months. Lupus 2014 Mar;23(3):293-8. doi: 10.1177/0961203313515763. Epub 2013 Dec 6. PMID: 24316605.
40. Swaak AJ, Groenwold J, Aarden LA, Statius van Eps LW, Feltkamp EW. Prognostic value of anti-dsDNA in SLE. Ann Rheum Dis. 1982 Aug;41(4):388-95. doi: 10.1136/ard.41.4.388. PMID: 6981385; PMCID: PMC1000956.

GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS

Os seguintes símbolos **podem** ter sido usados na rotulagem deste produto.

Símbolo	Descrição	Símbolo	Descrição
	Fabricante		Manter longe da luz solar
	Dispositivo médico diagnóstico para uso <i>in vitro</i>		Conformidade com a Diretiva 98/79
	Número do catálogo		Vidro de cobertura
	Suficiente para <i>n</i> testes		Lâmina de Substrato
	Código do lote		Tampão PBS
	Utilizado por		Meios de Montagem
	Limitações de Temperatura de Armazenamento		Conjugado
	Somente para Uso com Receita Médica		Controle Positivo
	Consulte as instruções eletrônicas de uso		Controle Negativo
	Armazenar na posição vertical		Fabricado nos EUA



ZEUS Scientific.

200 Evans Way, Branchburg, Nova Jersey, 08876, USA

Ligação gratuita (EUA): 1-800-286-2111, Opção 2

Internacional: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Site: www.zeusscientific.com

Para atendimento ao cliente nos EUA, entre em contato com seu distribuidor local.

Para suporte técnico dos EUA, entre em contato com a ZEUS Scientific, ligue gratuitamente ou escreva um e-mail para: support@zeusscientific.com.

Para consultas de Atendimento ao Cliente e Suporte Técnico fora dos EUA, entre em contato com seu distribuidor local.

©2019 ZEUS Scientific. Todos os direitos reservados.



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 em Arnhem
Países Baixos