



# AFIAS

## Free Anti-Adalimumab

### USO PRETENDIDO

**AFIAS Free Anti-Adalimumab** é um imunoenensaio de fluorescência (FIA) para a determinação semiquantitativa de anticorpos contra adalimumabe em sangue total/soro humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### INTRODUÇÃO

O adalimumabe é um anticorpo monoclonal totalmente humano que é administrado por via subcutânea como agente terapêutico biológico para o tratamento da artrite reumatoide e outras doenças crônicas debilitantes mediadas pelo fator de necrose tumoral- $\alpha$ .<sup>[1,2,3]</sup> O adalimumabe também é eficaz na manutenção da resposta de longa duração e remissão nos pacientes com doença de Crohn luminal.<sup>[4]</sup>

No entanto, durante o tratamento com adalimumabe, alguns pacientes desenvolvem anticorpos contra adalimumabe que alteram a farmacocinética da droga, o que gera um impacto negativo no desfecho clínico. Cerca de 35% dos pacientes não respondem à terapia com adalimumabe.<sup>[5,6,7,8]</sup> Dessa forma, a medição de anticorpos anti-adalimumabe tem um impacto maior para a etiologia da falha do tratamento.<sup>[9,10]</sup>

O **AFIAS Free Anti-Adalimumab** é usado para a detecção semiquantitativa de anticorpos livres contra adalimumabe em sangue total e soro. Este teste auxilia na obtenção de uma informação relevante para o tratamento terapêutico adequado.

### PRINCÍPIO

O teste **AFIAS Free Anti-Adalimumab** usa um imunoenensaio de ponte para detecção de anticorpos contra adalimumabe. Os anticorpos anti-adalimumabe presentes na amostra ligam-se no adalimumabe fluorescente marcado com biotina, o que resulta na formação de um complexo imunológico. Este imunocomplexo migra através da matriz de nitrocelulose e é capturado pela estreptavidina imobilizada na tira-teste.

Quanto mais anticorpos contra adalimumabe na amostra, mais complexos imunológicos são formados, o que leva à uma intensidade mais forte do sinal de fluorescência que é processada pelo instrumento para testes AFIAS para mostrar a concentração de anticorpos anti-adalimumabe.

### COMPONENTES

- O **AFIAS Free Anti-Adalimumab** consiste em 'cartuchos'.
- Cada bolsa de alumínio selada contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em uma bolsa de alumínio tem três componentes, incluindo uma parte do cartucho, uma parte do detector e uma parte do diluente.
- A parte do cartucho contém a membrana chamada tira de teste que possui estreptavidina na linha de teste e IgY de galinha na linha de controle.
- A parte do detector possui dois grânulos contendo conjugado fluorescente de adalimumabe, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, conjugado biotina-

adalimumabe, albumina de soro bovino, sacarose, IgG de camundongo em tampão tris-cloridrato.

- A parte do diluente contém tween 20, cloreto de sódio e azida sódica como conservante em tampão tris-cloridrato.

### ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Apenas para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Siga as instruções e procedimentos descritos nestas 'Instruções de uso'. Use apenas amostras frescas e evite a luz solar direta.
- Os números de lote de todos os componentes de teste (cartucho e ID chip) devem ser correspondentes. Não troque os componentes de teste entre lotes diferentes ou use os componentes de teste após a data de validade. Em qualquer um dos casos, podem ocorrer resultados incorretos.
- Não reutilize cartuchos. Um cartucho deve ser usado para testar apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer lacrado em sua embalagem original até pouco antes do uso. Não use um cartucho se a embalagem estiver danificada ou já tiver sido aberta.
- A amostra congelada deve ser descongelada apenas uma vez. Para envio, as amostras devem ser embaladas de acordo com os regulamentos locais. Amostras com hemólise grave e/ou hiperlipidemia não devem ser utilizadas.
- Se os componentes do teste e/ou a amostra forem armazenados na geladeira, deixe o cartucho e a amostra em **temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso**.
- O instrumento para testes AFIAS pode gerar uma leve vibração durante o uso.
- Cartuchos usados, C-tips e ponteiras devem ser manuseados com cuidado e descartados por um método apropriado de acordo com os regulamentos locais relevantes.
- O cartucho contém azida sódica (NaN<sub>3</sub>) e pode causar certos problemas de saúde, como convulsões, pressão arterial e frequência cardíaca baixas, perda de consciência, lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Evite contato com a pele, olhos e roupas. Em caso de contato, lave imediatamente com água corrente.
- Nenhuma interferência de biotina foi observada no **AFIAS Free Anti-Adalimumab** quando a concentração de biotina na amostra estava abaixo de 500 ng/mL. Se um paciente estiver tomando biotina em dosagem superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- O **AFIAS Free Anti-Adalimumab** fornecerá resultados precisos e confiáveis sujeitos às condições abaixo.
  - **AFIAS Free Anti-Adalimumab** deve ser usado apenas em conjunto com o equipamento para testes AFIAS.
  - Tem que ser usado com anticoagulantes recomendados

#### Anticoagulantes recomendados

K<sub>2</sub> EDTA, Na<sub>2</sub> EDTA, citrato de sódio, Heparina de lítio, heparina de sódio

- O modo C-tip deve ser usado quando as seguintes condições forem atendidas.

- O uso do C-tip fornecido junto ao kit é recomendado para a obtenção de resultados corretos.
- O sangue capilar deve ser imediatamente testado após a coleta.
- Não realizar o teste com o C-tip no 'Modo Geral'. Pode causar resultado errado.
- O excesso de sangue capilar ao redor do C-tip deve ser limpo.
- Para evitar contaminação cruzada, não reutilize a ponteira C-tip para mais de uma amostra.
- O cartucho AFIAS deve ser inserido e posicionado na entrada de cartuchos no equipamento antes da coleta da amostra de sangue.
- Ao coletar o sangue, tenha cuidado para não criar bolhas de ar no C-tip.

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultados falso-positivos devido a reações cruzadas e/ou adesão não específica de certos componentes da amostra aos anticorpos de captura/detectores.
- O teste pode apresentar resultados falso-negativos devido à não responsividade dos anticorpos anti-droga, o que é o mais comum se o epítipo for mascarado por alguns componentes desconhecidos, portanto, não pode ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do anticorpo anti-droga com tempo e/ou temperatura também pode causar resultado falso-negativo, pois torna o antígeno irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e causar resultados errôneos, como erros técnicos e de procedimento, degradação dos componentes/reagentes do teste ou presença de substâncias interferentes nas amostras do teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser apoiado por uma avaliação abrangente do médico em conjunto com sintomas clínicos e outros achados relevantes.

### ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Componente	Condição de armazenamento		
	Temperatura de Armazenamento	Validade	Nota
Cartucho	2 - 30 °C	20 meses	Fechado
		1 mês	Aberto

- Devolva o cartucho não utilizado à embalagem zipperbag sobresalente que contém o agente dessecante e feche novamente a embalagem até o uso.

### MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS Free Anti-Adalimumab**

- A caixa do kit contém
  - Cartuchos 24
  - Ponteiras (zipperbag) 24
  - C-tip (zipperbag) 24
  - Embalagem zipperbag para cartucho 1
  - ID chip 1
  - Instrução de Uso 1

### MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Free Anti-Adalimumab**.

Entre em contato para obter mais informações.

- **Equipamento AFIAS**

- AFIAS-1
- AFIAS-3
- AFIAS-6
- AFIAS-10

- **Boditech Anti-Adalimumab Control**

### COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizadas com o kit **AFIAS Free Anti-Adalimumab** são sangue total/soro humano.

- Recomenda-se testar a amostra em até 24h após a coleta.
- O soro deve ser separado do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (sangue total, soro) podem ser armazenadas por uma semana a 2-8 °C antes de serem testadas. Se o teste demorar mais de uma semana, o soro deve ser congelado a -20 °C.
- As amostras de soro congeladas a -20 °C durante 1 mês não mostraram diferença de desempenho.
- No entanto, amostras de sangue total não devem ser mantidas congeladas em nenhum caso.
- Como ciclos repetidos de congelamento-descongelamento podem afetar o resultado do teste, não recongele amostras previamente congeladas.
- Coleta de amostra de sangue capilar usando C-tip.
  - ① Segure o C-tip horizontalmente e toque a gota de sangue com a ponta do C-tip.
  - ② A ação capilar irá extrair automaticamente a amostra de sangue para o C-tip e parar.
  - ③ Limpe qualquer excesso de sangue ao redor da ponta.
  - ④ Verifique novamente se o sangue capilar foi preenchido com precisão no C-tip e se o leitor AFIAS está pronto para o teste no 'modo C-tip'.

### CONFIGURAÇÕES DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS Free Anti-Adalimumab** conforme descrito: cartuchos, ponteiras, C-tips, ID chip, embalagem zipperbag para cartucho e instruções de uso.
- Se o cartucho selado tiver sido armazenado na geladeira, coloque-o em uma superfície plana à **temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos** antes da realização do teste.
- Ligue o equipamento para testes AFIAS.
- Esvazie a caixa de ponteiras.
- Insira o ID chip na porta do chip 'ID'.
- ※ **Favor consultar o Manual de Operações dos equipamentos AFIAS para obter informação completa e instruções de operação.**

### PROCEDIMENTO DO TESTE

► AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6

Modo geral

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiras no cartucho.
- 3) Selecione 'General mode' no equipamento AFIAS.
- 4) Pipete 100  $\mu$ L de amostra (sangue total, soro, controle)

- e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
  - O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

**Modo C-tip**

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Pegue 30 µL de sangue capilar usando o C-tip.
- Insira o C-tip contendo o sangue capilar no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione 'Modo C-tip' no equipamento para testes AFIAS.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

▶ AFIAS-10

**Modo normal**

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione o botão 'Carregar' para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- Insira o tubo de amostra no rack de tubos.
- Insira o rack de tubos na parte de carregamento da estação de amostras.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

**Modo de Emergência – Modo Geral**

- O procedimento do teste é o mesmo do "Modo Normal, de 1 a 3".
- Passa para o 'Modo de Emergência' no AFIAS-10.
- Selecione o tipo de ponteira (general tip) na tela.
- Selecione o tipo de amostra (sangue total/soro) na tela.
- Pipete 100 µL de amostra e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

**Modo de Emergência – C-tip**

- Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- Pegue 30 µL de sangue capilar usando o C-tip.
- Insira o C-tip contendo o sangue capilar no orifício para ponteiros no cartucho.
- Selecione o botão 'Carregar' para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- Passa para o 'Modo de Emergência' no equipamento AFIAS-10.
- Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
- Selecione o ícone 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

**INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO**

- O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração livre de anti-adalimumabe na amostra de teste em termos de AU/mL
- Faixa de trabalho: 3 – 200 AU/mL
- Valor de corte: 10 AU/mL

Valor de referência	Interpretação
> 10 AU/mL	Positivo
≤ 10 AU/mL	Negativo

**CONTROLE DE QUALIDADE**

- Controle de qualidade (CQ) são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de controle de qualidade também devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida sobre a validade dos resultados dos testes.
- Os controles do kit **AFIAS Free Anti-Adalimumab** são fornecidos sob demanda. Para maiores informações sobre a obtenção do controle, entre em contato com a **BIOSYS Ltda.** (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle).

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO**

- Sensibilidade analítica**
  - Limite do branco (LoB) 1,20 AU/mL
  - Limite de detecção (LoD) 3 AU/mL
- Efeito pró-zona de alta dose**  
Não há efeito pró-zona de alta dose na concentração de anti-adalimumabe até 2.000 AU/mL.

- Especificidade Analítica**
  - Reatividade cruzada

Os resultados do teste **AFIAS Free Anti-Adalimumab** não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com estas biomoléculas:

Material de reação cruzada	Concentração
Anti-infliximabe	1.000 ng/mL
Anti-golimumabe	1.000 ng/mL
Anti-etanercept	1.000 ng/mL

- Interferência  
As substâncias interferentes listadas na tabela a seguir foram adicionadas à amostra de ensaio nas concentrações mencionadas abaixo. Os resultados dos testes do kit **AFIAS Free Anti-Adalimumab** não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

Interferente	Concentração
Hemoglobina	1000 mg/dL
Bilirrubina	40 mg/dL
Triglicerídeos	1500 mg/dL
Fator reumatoide	200 IU/mL
Albumina sérica humana	6 g/dL

- Precisão**
  - Estudo unicêntrico  
Repetibilidade (precisão intra-ensaio)  
Precisão intra-laboratorial (Precisão total)  
Precisão lote a lote  
3 Lotes do **AFIAS Free Anti-Adalimumab** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi duplicado.
  - Estudo multicêntrico  
Reprodutibilidade  
1 Lote do **AFIAS Free Anti-Adalimumab** foi testado por 5 dias em 3 diferentes centros (1 pessoa por centro, 1 instrumento para 1 centro). Cada material padrão foi

testado 1 vez por lote em 5 replicadas por dia.

Conc. [AU/mL]	Repetibilidade		Precisão total	
	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)
12	11,86	6,4	11,75	6,5
50	48,99	7,3	49,16	6,6
100	96,86	5,7	97,19	6,5

  

Conc. [AU/mL]	Precisão lote a lote		Reprodutibilidade	
	AVG	CV (%)	AVG	CV (%)
12	11,91	6,6	12,04	5,8
50	48,78	7,6	50,08	5,5
100	98,07	7,4	100,82	5,4

**Exatidão**

A exatidão foi confirmada por 3 lotes diferentes testando dez vezes cada concentração da amostra.

Conc. [AU/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	AVG	Recuperação (%)
29	29,37	29,45	30,98	29,94	103,2
67	68,86	71,13	67,51	69,37	103,5
86	88,82	85,75	88,46	87,68	101,9
124	124,80	127,77	129,75	127,44	102,8
143	148,03	144,57	148,96	147,19	102,9
181	184,82	184,82	179,83	181,58	100,3

**Avaliação do Desempenho Clínico**

O **AFIAS Free Anti-Adalimumab** demonstrou os seguintes resultados de desempenho clínico:

Total (N=55)	n	AFIAS Free Anti-Adalimumab	
		Positivo	Negativo
Comparativo	11	10	1
A	Negativo 44	2	42
Concord. Positiva (>10 AU/mL)		90,9%	
Concord. Negativa (≤10 AU/mL)		95,5%	
Concordância Total		94,5%	

**REFERÊNCIAS**

- Hanauer SB, Sandborn WJ, Rutgeerts P et al. Human anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody (adalimumab) in Crohn's disease: the CLASSIC-I trial. *Gastroenterology* 2006; 130: 323 – 33
- Sandborn WJ, Rutgeerts P, Enns R et al. Adalimumab induction therapy for Crohn disease previously treated with infliximab: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2007; 146: 829 – 38.
- Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P et al. Adalimumab for maintenance of clinical response and remission in patients with Crohn's disease: the CHARM trial. *Gastroenterology* 2007; 132: 52 – 65.
- Colombel JF, Sandborn WJ, Rutgeerts P et al. Comparison of two adalimumab treatment schedule strategies for moderate-to-severe Crohn's disease: results from the CHARM trial. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1170 – 9
- Mehta F. Report: economic implications of inflammatory bowel disease and its management. *Am J Manag Care*. 2016 Mar;22(3 Suppl): s51–60.
- Mitrev N, Vande Castele N, Seow CH, Andrews JM, Connor SJ, Moore GT, et al. Review article: consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Dec;46(11– 12):1037–53.
- Boyman O, Comte D, Spertini F. Adverse reactions to biologic agents and their medical management. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Oct; 10(10):612–27.
- Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D'Haens G,

- Carbonez A, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2003 Feb 13;348(7):601–8.
- Mok CC, van der Kleij D, Wolbink GJ. Drug levels, anti-drug antibodies, and clinical efficacy of the anti-TNFα biologics in rheumatic diseases. *Clin Rheumatol*. 2013;32(10):1429–35.
  - Bartelds GM, et al. Surprising negative association between IgG1 allotype disparity and anti-adalimumab formation: a cohort study. *Arthritis Res Ther*. 2010;12(6): R221.

**Observação:** Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos símbolos.

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado, consulte documentos anexos
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limites de temperatura
	Não reutilizar
	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>

**Boditech Med Incorporated**   
 43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398, Republic of Korea  
 Tel: +(82) -33-243-1400  
 Fax: +(82) -33-243-9373  
 www.boditech.co.kr

**Fabricado por: Boditech Med Incorporated**  
**Importado e Distribuído por: BioSys Ltda**  
**Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ**  
**Cep: 24020-112**  
**CNPJ: 02.220.795/0001-79**  
**MS – nº 10450840429**  
**SAC: sac@biosys.com.br- (21) 3907-2534 / 0800 015 1414**  
**www.grupokovalent.com.br/**