

Rheumatoid
Arthritis

ichroma™ Anti-CCP Plus

USO PRETENDIDO

ichroma™ Anti-CCP Plus é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação qualitativa ou semiquantitativa de autoanticorpos IgG humanos contra o peptídeo citrulinado cíclico (CCP) em amostras de sangue total/soro/plasma humano. É utilizado como auxílio ao diagnóstico da Artrite Reumatoide em combinação com outros achados clínicos e laboratoriais.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A Artrite Reumatoide é uma doença autoimune comum e sistêmica que afeta entre 0,5 e 1,0% da população mundial. A Artrite Reumatoide é caracterizada pela inflamação crônica da membrana sinovial podendo levar à destruição progressiva das articulações, incapacitação e morte.⁽¹⁾ Como o dano articular é irreversível, a intervenção terapêutica precoce é de suma importância no prognóstico dos pacientes.^(2,3)

O diagnóstico de doenças reumatológicas inclui o histórico médico, os achados clínicos (incluindo técnicas de imagem) e testes sorológicos laboratoriais. Os testes de diagnóstico sorológico são importantes na detecção precoce e diferenciação da Artrite Reumatoide. O teste sorológico mais frequente é o da medição do fator reumatoide (FR).⁽⁴⁾ O anticorpo contra RF está presente em cerca de 75% dos pacientes com Artrite Reumatoide, mas a especificidade é limitada, já que o FR também está presente em indivíduos saudáveis e em pacientes com outras doenças reumáticas ou inflamatórias, doenças autoimunes ou infecções crônicas.⁽⁵⁾

Mais recentemente, novos autoanticorpos específicos aos antígenos proteicos citrulinados (ACPAs) tiveram uma contribuição crucial no diagnóstico da artrite reumatoide.⁽⁶⁾ Embora muitos ensaios estejam disponíveis para a detecção dos ACPAs para antígenos específicos, para a condução clínica da artrite reumatoide, a maioria dos testes utiliza uma proteína citrulinada cíclica (CCP) sintética como antígeno para a detecção dos ACPAs. O ensaio anti-CCP é capaz de detectar os autoanticorpos contra proteínas citrulinadas que apresentam alta sensibilidade relativa (entre 50% e 75%) à artrite reumatoide e tem alta especificidade (cerca de 90%) para a artrite reumatoide.⁽⁷⁾ Por conta dessa alta especificidade, o teste anti-CCP se tornou parte importante no processo de diagnóstico.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção tipo sanduíche.

Os antígenos presentes no detector se ligam aos anticorpos presentes na amostra formando complexos antígeno-anticorpo, e migram para a matriz de nitrocelulose onde são capturados pela estreptavidina imobilizada na linha teste.

Quanto mais anticorpo estiver presente na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo são formados, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência no antígeno detector, que é processado pelo leitor para testes ichroma que exibe a concentração de anti-CCP na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ Anti-CCP Plus** consiste em 'Cassetes', 'Tubos

detectores' e 'Diluyente do detector'.

- O cassete contém uma membrana chamada tira teste, que contém estreptavidina na linha teste e IgY de galinha na linha controle. Cada cassete é individualmente selado em um invólucro de folha de alumínio contendo um dessecante, e todos os cassetes são embalados numa caixa.
- O tubo detector contém um grânulo, o qual contém conjugado fluorescente anti-IgG humano, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, conjugado CCP-biotina, albumina de soro bovino (BSA) como estabilizante, sacarose, azul de bromofenol em tampão fosfato salino. Todos os tubos detectores estão em uma embalagem.
- O diluyente do detector contém azida sódica como conservante, albumina de soro bovino (BSA) como estabilizante, tween 20 em tampão fosfato salino, e é previamente dispensado em um frasco. O diluyente do detector está embalado em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico *in vitro*.
- Siga cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nessa 'Instrução de uso'.
- Use somente amostras frescas e evite exposição direta à luz do sol.
- Os números dos lotes de todos os componentes do teste (cassete, ID chip, tubo detector e diluyente do detector) devem ser correspondentes.
- Não misture materiais de diferentes lotes do produto ou use o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos poderá oferecer resultados incorretos.
- Não reutilize os cassetes ou tubos detectores. O tubo detector deve ser usado para o processamento de apenas uma amostra. O cassete deve ser utilizado para o teste de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer em seu invólucro original até imediatamente antes do uso. Não use o cassete caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas somente uma vez. Para transportá-las, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidêmicas não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes do teste e/ou a amostra tenham sido armazenados sob refrigeração, permita que **o cassete, tubo detector, diluyente do detector e a amostra permaneçam em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso**.
- O instrumento para testes ichroma™ pode vibrar levemente durante seu uso.
- Os cassetes, tubos detectores, diluyente do detector, tubos capilares e ponteiros usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados de uma forma apropriada conforme as normas locais.
- O tubo detector e o diluyente do detector contêm azida sódica (NaN₃), e podem causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e insuficiência respiratória. Evite o contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, lave a área imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência por biotina com **ichroma™ Anti-CCP Plus** quando a concentração de biotina na amostra foi abaixo de 2 ng/mL. Se o paciente estiver tomado biotina em uma dose superior a 0,03 mg/dia, recomenda-se que o teste seja realizado 24 horas após a descontinuação da administração da biotina.
- O kit **ichroma™ Anti-CCP Plus** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
 - O kit **ichroma™ Anti-CCP Plus** deve ser usado somente em conjunto com os instrumentos para testes ichroma™.

- Deve ser utilizado anticoagulante recomendado.

Anticoagulantes Recomendados

Na₂ EDTA, K₂ EDTA, Citrato de Sódio

■ O tubo capilar deve ser utilizado quando as seguintes condições forem atendidas.

- O tubo capilar fornecido com o kit é recomendado para obtenção do resultado correto do teste.
- O sangue total deve ser imediatamente testado após coleta.
- Excesso de sangue total no tubo capilar deve ser limpo.
- Para evitar contaminação cruzada, por favor não reutilize o tubo capilar para múltiplas amostras.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condição de Armazenagem

Componente	Temperatura	Validade	Nota
Cassete	2 - 30°C	20 meses	Uso único
Tubo Detector	2 - 8°C	20 meses	Uso único
Diluyente do Detector	2 - 30°C	20 meses	Fechado
	2 - 30°C	20 meses	Aberto

- Após a abertura do invólucro do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado falso-positivo devido à reação cruzada e/ou adesão não-específica de certos componentes da amostra aos anticorpos detectores/captura.
- O teste pode apresentar resultado falso-negativo. A não-responsividade do antígeno aos anticorpos é mais comum onde o epítipo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do antígeno com o tempo e/ou temperatura pode levar ao resultado falso-negativo, uma vez que se torna irreconhecível pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e levar a resultados errôneos, tais como erros de procedimento/técnico, degradação dos componentes do teste/reagentes ou presença de substâncias interferentes nas amostras-teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ Anti-CCP Plus**

- Caixa do Cassete:
 - Cassetes 25
 - Tubo Capilar (5 µL) 25
 - ID Chip 1
 - Instrução de uso 1
- Caixa do Tubo detector:
 - Tubo Detector 25
 - Diluyente do Detector 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ Anti-CCP Plus**.

Por favor, contate nossos representantes para maiores informações.

- Instrumento para testes **ichroma™**:
 - **ichroma™ II**
 - **ichroma™ III**
 - **ichroma™ M2**
- **i-Chamber**
- **Boditech Anti-CCP Plus Control**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra utilizado com o kit **ichroma Anti-CCP Plus** é sangue total/soro/plasma humano.

- É recomendado testar as amostras dentro de 24 horas após a coleta.
- As amostras (soro, plasma) devem ser separados do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (sangue total, soro, plasma) podem ser armazenadas por até um mês a 2-8°C até que o teste seja realizado. Se um período maior que um mês for necessário até a realização do teste, as amostras (soro, plasma) deverão ser congeladas a -20°C.
- As amostras (soro, plasma) armazenadas sob congelamento a -20°C por três meses não apresentaram diferença em sua performance.
- Contudo, amostras de sangue total não poderão ser mantidas congeladas em nenhuma hipótese.
- Um ciclo repetido de congelamento e descongelamento pode afetar o resultado dos testes. Não congele novamente amostras previamente congeladas.
- A amostra de sangue total deve ser coletada conforme a seguir:
 - ① Use luvas descartáveis e equipamento de proteção para sua segurança.
 - ② Abra a zipperbag onde ficam contidos os tubos capilares.
 - ③ Pegue um tubo capilar e confira se há danos ou contaminação.
 - ④ Segure a alça do tubo capilar e toque a superfície do sangue com o tubo capilar.
 - ⑤ Preencha completamente o tubo capilar com o sangue. (Assegure que nenhuma bolha de ar adentre na bolha capilar. Não deixe com que o sangue suje a superfície do tubo capilar. Caso caia sangue na superfície do tubo capilar, remova-o gentilmente com uma gaze.)

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ Anti-CCP Plus**: Cassetes selados, tubos detectores, diluyente do detector, tubos capilares, ID chip e Instrução de uso.
- Certifique-se que o número do lote dos cassetes equivale ao do tubo detector, diluyente do detector, assim como ao do ID chip.
- Caso o cassete selado, tubo detector e diluyente do detector tenham sido armazenados sob refrigeração, coloque-os sobre uma superfície limpa e plana, **em temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste**.
- Ligue o instrumento para testes **ichroma™**.
- Insira o ID chip no 'ID chip port' do instrumento. **(Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes ichroma™ para obter informação completa e instruções de operação.)**

ATENÇÃO

- Para minimizar resultados incorretos, é recomendado que a temperatura ambiente do cassete seja de 25°C durante o tempo de reação após o carregamento da mistura da amostra no cassete.
- Para manter a temperatura ambiente de 25°C, podem ser utilizados vários dispositivos, como o dispositivo i-Chamber ou uma incubadora.

PROCEDIMENTO DO TESTE

▶ **ichroma™ II, ichroma™ M2**

Modo Multi teste / Modo leitura imediata

- 1) Transfira 150 µL do diluyente do detector utilizando uma pipeta para o tubo detector contendo o grânulo. Quando o grânulo

estiver completamente dissolvido no tubo, significa que o tampão de detecção foi formado.

(O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não exceda o tempo de 30 segundos.)

- Transfira 5 µL da amostra (sangue total/soro/plasma humano/controle) para o tubo detector. Feche a tampa do tubo detector e misture a amostra completamente por agitação cerca de 20 vezes.

(A mistura da amostra deve ser utilizada imediatamente. Não exceda o tempo de 30 segundos.)

*Se for utilizar tubo capilar (5 µL), coloque-o dentro do tubo detector após a coleta da amostra de sangue total.

- Pipete 75 µL da mistura da amostra e dispense-a no poço de amostra do cassete.
- Insira o cassete carregado com a mistura da amostra no i-Chamber ou na incubadora (25°C).
- Deixe o cassete carregado com a amostra no i-Chamber ou na incubadora por 12 minutos.

⚠ Escaneie o cassete carregado com a amostra imediatamente após o tempo de incubação terminar. Caso contrário, isso causará resultados de teste inexatos.

- Para escanear o cassete carregado com a amostra, insira o cassete no suporte para cassetes do instrumento para testes ichroma™. Confirme a posição adequada do cassete antes de empurrá-lo todo para dentro do suporte. Uma seta foi marcada no cassete especialmente para este fim.
- Pressione 'Select' ou aperte o botão "Start" no instrumento para testes ichroma™ para iniciar o processo de digitalização. (ichroma™ M2 começa a leitura automaticamente após a inserção.)
- O instrumento para testes ichroma™ começará a escanear o cassete carregado com a amostra imediatamente.
- Leia o resultado na tela do instrumento para testes ichroma™.

► **ichroma™ III**

- O procedimento do teste é o mesmo que o 'ichroma™' citado acima do item 1) ao item 3).
- Insira o cassete carregado com a amostra no suporte para cassetes do instrumento ichroma™ III. Confirme a posição adequada do cassete antes de empurrá-lo todo para dentro do suporte. Uma seta foi marcada no cassete especialmente para este fim.
- Aperte o botão 'Start' do instrumento ichroma™ III para iniciar o processo de digitalização.
- O instrumento ichroma™ III começará a escanear o cassete carregado com a amostra imediatamente.
- Leia o resultado na tela do instrumento ichroma™ III.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes ichroma™ calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de anti-CCP e a situação do anti-CCP da amostra teste, em termos de U/mL.

Resultado do Teste [U/mL]	Valor Exibido [U/mL]
< 5,0	< 3,5 ou valor, (Neg)
5,0 ≤ x < 300	Valor, (Pos)

- Cut-off: 5,0 U/mL
- Faixa de trabalho: 3,5 - 300,0 U/mL

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e validade

do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.

- Os testes de controle de qualidade devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida em relação a validade dos resultados dos testes.
- Os controles são fornecidos sob demanda com o kit **ichroma™ Anti-CCP Plus**. Para mais 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) 2,32 U/mL
 Limite de Detecção (LoD) 3,49 U/mL

- Especificidade Analítica**
 - Reatividade Cruzada
 As biomoléculas listadas na tabela a seguir foram adicionadas às amostras teste em concentrações mais altas do que os níveis fisiológicos presentes no sangue. Os resultados com o kit **ichroma™ Anti-CCP Plus** não apresentaram reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material de Reatividade Cruzada	
Anti-SSA	
Anti-SSB	
Anti-Sm	
Anti-RNP	
Anti-dsDNA	
Anti-Jo-1	
Anti-Scl70	
Anti-Ribo-P	
Anticorpo Antinuclear (ANA).	

- Interferência
 Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados a amostra teste, nas concentrações apresentadas abaixo. Os resultados com o kit **ichroma™ Anti-CCP Plus** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Material de Interferência	Concentração
Hemoglobina	500 mg/dL
Bilirrubina	0,2 mg/mL
Triglicerídeos	2.000 mg/dL
Fator Reumatoide	78 IU/mL
Albumina de Soro Humano	12 g/dL

- Precisão:**
 - Entre lotes
 Uma pessoa testou três lotes diferentes do **ichroma™ Anti-CCP Plus**, 10 vezes em cada concentração do controle padrão.
 - Entre pessoas
 Três pessoas diferentes testaram o **ichroma™ Anti-CCP Plus**, 10 vezes em cada concentração do controle padrão.
 - Entre dias
 Uma pessoa testou **ichroma™ Anti-CCP Plus** durante 5 dias, 5 vezes em cada concentração do controle padrão.
 - Entre locais
 Uma pessoa testou o **ichroma™ Anti-CCP Plus** em 3 locais diferentes, 5 vezes em cada concentração do controle padrão.

Anti-CCP [U/mL]	Entre lotes		Entre pessoas		Entre dias		Entre locais	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
6,25	6,22	5,0	6,21	5,9	6,25	6,6	6,13	5,2
30,00	29,61	5,7	30,39	5,3	29,98	5,7	29,50	6,2
100,00	99,42	6,6	99,27	6,5	100,64	5,6	98,55	6,9

Exatidão

A exatidão foi confirmada testando 3 lotes diferentes do **ichroma™ Anti-CCP Plus**. Os testes foram repetidos 6 vezes em cada concentração de soro humano.

Anti-CCP [U/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	CV (%)	Bias (%)
4,15	3,83	3,86	3,87	3,86	2,5	-7,1
5,31	5,05	4,88	4,91	4,95	3,3	-6,9
16,66	15,21	15,32	15,17	15,23	1,8	-8,6
19,79	18,53	18,07	18,38	18,33	4,0	-7,4
67,02	67,16	67,67	66,55	67,13	2,2	0,2

Comparabilidade

Total (N = 216)		ichroma™ Anti-CCP Plus	
		Positivo	Negativo
Comparador	Positivo	109	7
A	Negativo	4	96
Concordância Positiva (≥ 5 U/mL) (%)		93,9	
Concordância Negativa (< 5 U/mL) (%)		96,0	
Total (%)		94,9	

GARANTIA

Esta instrução de uso deve ser lida atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do teste não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

Seguir as disposições da resolução em vigor sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

- Birch JT Jr, Bhattacharya S. Emerging trends in diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis. Prim Care. 2010;37:779–92.
- Landewe RB. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. Arthritis Rheum 2003;48(1):1-5.
- Lard LR, Visser H, Speyer I, et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. Am J Med 2001;111:446-51.
- Mageed RA. The RF antigen. In Manual of Biological Markers of Disease Edited by van Venrooij WJ & Maini RN Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1996. pp. 1–27.
- van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. Arthritis Res 2002;4:87–93
- Systematic review: accuracy of anti-citrullinated Peptide antibodies for diagnosing rheumatoid arthritis. Whiting PF, Smidt N, Sterne JA, Harbord R, Burton A, Burke M, Beynon R, Ben-Shlomo Y, Axford J, Dieppe P Ann Intern Med. 2010 Apr 6; 152(7):456-64; W155-66.
- The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, van Venrooij WJ Arthritis Rheum. 2000 Jan; 43(1):155-63.

símbolos:

	Quantidade suficiente para <n> testes
	Consultar as instruções para utilização
	Validade
	Código do lote
	Número de catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limite 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
 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 10350840380
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br

Observação: Favor consultar a tabela abaixo para identificar os diversos