

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.<sup>(1)</sup> Como o dano articular é irreversível, a intervenção terapêutica precoce é de suma importância no prognóstico dos pacientes.<sup>(2,3)</sup>

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).<sup>(4)</sup> 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.<sup>(5)</sup>

Mais recentemente, novos autoanticorpos específicos aos antígenos proteicos citrulinados (ACPAs) tiveram uma contribuição crucial no diagnóstico da artrite reumatoide.<sup>(6)</sup> 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.<sup>(7)</sup> 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 (NaN<sub>3</sub>), 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

Na<sub>2</sub> EDTA, K<sub>2</sub> 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.

- 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   |

**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

**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       |
| <b>Concordância Positiva (≥ 5 U/mL) (%)</b>    |          | 93,9                   |          |
| <b>Concordância Negativa (&lt; 5 U/mL) (%)</b> |          | 96,0                   |          |
| <b>Total (%)</b>                               |          | 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