



ichroma™

IL-6

USO PRETENDIDO

O **ichroma™ IL-6** é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para a determinação quantitativa de IL-6 em amostras de sangue total/soro/plasma humano. É útil como auxílio no manejo e no monitoramento de doenças inflamatórias.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A IL-6 (Interleucina-6) é produzida por uma variedade de células, incluindo células T, células B, fibroblastos, células endoteliais, monócitos, queratinócitos, células mesangiais, e algumas células tumorais. Os genes para IL-6 humana e murina foram clonados e sequenciados. A IL-6 humana possui peso molecular de 21 a 28 kDa e é composta por 212 aminoácidos que apresentam dois sítios possíveis de N-glicosilação e quatro resíduos de cisteína.

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica com múltiplos papéis na regulação da inflamação e da hematopoese. A IL-6 é produzida no local da inflamação e desempenha um papel fundamental na resposta à fase aguda, conforme definido por uma variedade de características clínicas e biológicas, como a produção de proteínas da fase aguda.

O IL-6 é o regulador principal da resposta à fase aguda nos hepatócitos humanos. Devido a sua ação pleiotrópica, a IL-6 tem sido intensivamente estudada pelos laboratórios. Ela se demonstrou um fator importante nos sistemas imune e hematopoiético, e um importante mediador na resposta hepática de fase aguda.

IL-6 é uma das citocinas pro-inflamatórias e é detectada no soro em estágios iniciais das infecções. Particularmente em infecções bacterianas, em estágios iniciais da doença, os níveis de IL-6 podem ficar maiores do que os do PCR, podendo assim auxiliar no diagnóstico precoce. No início da infecção, o nível de PCR pode ser baixo, mas a medição periódica pode fornecer resultados úteis e auxiliar na tomada de decisão sobre a descontinuidade do tratamento com o antibiótico. A combinação de IL-6 com PCR foi recentemente comprovada como sendo útil no diagnóstico precoce da sepsis em recém-nascidos.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção tipo sanduíche.

Os anticorpos detectores presentes no tampão se ligam aos antígenos presente na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo, que migram através da matriz de nitrocelulose e são capturados por outros anticorpos imobilizados na linha de teste.

Quanto mais antígeno estiver presente na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo são formados, levando a uma intensidade mais forte do sinal de fluorescência no anticorpo detector. Este sinal é então interpretado pelo equipamento ichroma que exibe a concentração de IL-6 na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ IL-6** é composto por 'Cassetes', 'Tubo Detector', 'Diluyente do Detector', 'Tubos Capilares', 'ID Chip' e 'Instrução de Uso'.

■ O cassete contém uma tira de teste, a membrana que possui estreptavidina na linha teste, e IgY de galinha na linha controle. Cada cassete é selado individualmente em um invólucro de alumínio contendo um dessecante. Os invólucros são embalados em uma caixa.

■ O tubo detector compreende 2 grânulos que contém conjugado

fluorescente anti-IgY de galinha, conjugado fluorescente anti-Interleucina 6, conjugado biotina anti-Interleucina 6, bloqueador HAMA, albumina de soro bovino (BSA), azul de bromofenol, sacarose como estabilizante e azida sódica em tampão Tris e tampão fosfato salina como conservante. Todos os tubos detectores estão embalados em uma bolsa.

■ O diluyente do detector contém cloreto de sódio, Tween20, TTAB e azida sódica em tampão Tris como conservante e é pré-dispensado em um frasco. Os frascos do diluyente são embalados em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente para diagnóstico *in vitro*.
- Seguir cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nesta 'Instrução de Uso'.
- Utilizar apenas amostras frescas e evitar exposição direta à luz solar.
- Os números dos lotes de todos os componentes do teste (cassete, tubo detector, diluyente do detector, tubo capilar e ID chip) devem ser correspondentes.
- Não misturar componentes de diferentes lotes do produto nem usar o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos poderá gerar resultados incorretos.
- Não reutilizar cassetes ou tubos detectores. O cassete deve ser utilizado para o teste de apenas uma amostra. O tubo detector deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cassete deve permanecer em seu invólucro original até imediatamente antes do uso. Não usar o cassete caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas apenas uma vez. Para o transporte, as amostras devem estar embaladas de acordo com a regulamentação local. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidêmicas não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, deixe o cassete, o tubo detector, o diluyente do detector e a amostra atingirem a **temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes de sua utilização**.
- O instrumento para testes ichroma™ pode gerar leve vibração durante o uso.
- Cassetes, tubos detectores, diluentes do detector, tubos capilares e ponteiros utilizadas devem ser manuseados cuidadosamente e descartados de maneira apropriada, conforme a legislação local.
- O tubo detector e o diluyente do detector contêm azida sódica (NaN₃), o que pode 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.
- Nenhuma interferência com biotina foi observada no ichroma™ IL-6 quando a concentração de biotina na amostra esteve abaixo de 5 ng/mL. Se um paciente faz uso de biotina com dosagem superior a 0,03mg por dia, é recomendado testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- O kit **ichroma™ IL-6** fornece resultados precisos e confiáveis quando sujeito às seguintes condições:
 - O kit **ichroma™ IL-6** deve ser utilizado apenas em conjunto com o instrumento para teste ichroma™.
 - Deve ser usado somente com os anticoagulantes recomendados:

Anticoagulante Recomendado
K ₂ EDTA, K ₃ EDTA, Heparina Lítica
- Os tubos capilares devem ser utilizados quando as seguintes condições forem cumpridas.
 - O tubo capilar fornecido com o kit é recomendado para a obtenção de resultados de teste corretos.
 - Sangue total deve ser testado imediatamente após a coleta.
 - O sangue total em excesso ao redor do tubo capilar deve ser removido.
 - Favor não reutilizar tubos capilares para mais de uma amostra,

para evitar contaminações cruzadas.

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 quando 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 o antígeno 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 apoiado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

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

- Após a abertura da embalagem de alumínio do cassete, o teste deve ser realizado imediatamente.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ IL-6**

- Caixa do Cassete:
 - Cassetes 25
 - Tubo Detector 25
 - Diluyente do detector 1
 - Tubo Capilar (35 µL) 25
 - ID Chip 1
 - Instruções de uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os seguintes itens podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ IL-6**:

- **ichroma™ II**
- **ichroma™ III**
- **ichroma™ M2**
- **ichroma™ 50**
- **ichroma™-50 Plus**
- **Boditech IL-6 Control**

Por favor, contate a **BIOSYS LTDA.** para maiores informações.

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os tipos de amostras utilizados com o kit **ichroma™ IL-6** são sangue total/soro/plasma humano.

- É recomendado testar as amostras dentro de 24 horas após a coleta.
- As amostras de soro e plasma devem ser separadas do coágulo pela centrifugação do sangue total dentro de 3 horas após sua coleta.
- As amostras (sangue total, soro e plasma) podem ser armazenadas por uma semana a 2-8°C antes da realização do teste. Se a testagem for adiada por mais de uma semana, as amostras de soro e plasma devem ser congeladas a -20°C ou menos.
- O congelamento de amostras de soro e plasma por até 3 meses não afetou a qualidade do resultado.
- No entanto, amostras de sangue total não podem ser congeladas

em nenhum caso.

- Ciclos sucessivos de congelamento e descongelamento podem resultar em mudanças nos valores do teste. Não congele novamente amostras previamente congeladas.

Tubo Capilar (35 µL)

Amostras de sangue total capilar devem ser coletadas conforme abaixo:

- ① Utilize luvas descartáveis e adequado equipamento de proteção individual.
- ② Abra o zipperbag contendo tubos capilares.
- ③ Pegue um tubo capilar e verifique se há danos ou contaminação.
- ④ Segure o corpo do tubo capilar e toque na superfície do sangue com o tubo capilar.
- ⑤ Preencha completamente o tubo capilar com sangue. (Garanta que não haja bolhas de ar no tubo capilar. Não contamine a superfície do tubo capilar com sangue. Caso isso ocorra, remova o excesso de sangue da superfície do tubo capilar suavemente com uma gaze).

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ IL-6**: 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 dos tubos detectores, do diluyente do detector, bem como o do ID Chip.
- Mantenha o cassete selado, o tubo detector e o diluyente do detector (se armazenado na geladeira) **à temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste**. Coloque o cassete sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana.
- Ligue o equipamento **ichroma™**.
- Insira o ID Chip na "Porta para ID Chip". (Favor consultar o Manual de Operações do instrumento **ichroma™** para obter informações completas e instruções de operação.)

PROCEDIMENTO DO TESTE

► **ichroma™ II, ichroma™ M2**

Modo Multi Teste

- 1) Transfira 150 µL do diluyente do detector utilizando uma pipeta para o tubo detector contendo os grânulos. Quando os grânulos estiverem completamente dissolvidos no tubo detector, o tampão de detecção estará pronto. (O tampão de detecção deve ser utilizado imediatamente. Não leve mais de 30 segundos para utilizá-lo.)
- 2) Transfira 35 µL de amostra (sangue total/soro/plasma humano/controlado) utilizando uma pipeta para o tubo detector contendo o tampão de detecção.
 - ❖ Se utilizar o tubo capilar (35 µL), coloque-o dentro do tubo detector após coletar a amostra.
- 3) Feche a tampa do tubo detector e misture a amostra completamente agitando o tubo cerca de 20 vezes. (A mistura da amostra deve ser utilizada imediatamente. Não ultrapasse os 30 segundos.)
- 4) Pipete 75 µL da mistura da amostra e dispense dentro do poço de amostra do cassete.
- 5) Mantenha o cassete carregado com a amostra em temperatura ambiente por 12 minutos antes de inseri-lo no suporte para cassete do instrumento.
 - ⚠ Escaneie o cassete carregado com a amostra imediatamente após o término do tempo de incubação. Caso contrário, podem ocorrer resultados inexatos.
- 6) Para escanear o cassete carregado com a amostra, insira-o no suporte para cassetes do instrumento para testes **ichroma™**. Verifique a orientação correta do cassete no instrumento antes de empurrá-lo totalmente para dentro. Há uma seta no cassete indicando a orientação correta.
- 7) Pressione o botão 'START' no instrumento para teste **ichroma™**

para iniciar o processo de escaneamento.

- 8) O instrumento para testes **ichroma™** iniciará o escâner do cassete carregado com a amostra imediatamente.
- 9) Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes **ichroma™**.

Modo de Teste Único

- 1) O procedimento do teste é o mesmo do Modo Multi do item 1) ao item 4).
- 2) Insira o cassete carregado com a amostra no suporte para cassetes do instrumento para testes **ichroma™**. Verifique a orientação correta do cassete no instrumento antes de empurrá-lo totalmente para dentro. Uma seta marcada no cassete indica a orientação correta
- 3) Pressione o botão 'START' no instrumento para teste **ichroma™**.
- 4) O cassete será inserido no instrumento para testes **ichroma™** e o escâner será iniciado automaticamente após 12 minutos.
- 5) Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes **ichroma™**.

► **ichroma™ III**

- 1) O procedimento do teste é o mesmo do 'Modo de Teste Único'.

► **ichroma™-50, ichroma™-50 Plus**

- 1) Insira a ponteira na estação para ponteiras.
- 2) Insira o tubo detector na estação para reagente e cubra-a para segurar o tubo detector no local.
- 3) Abra a tampa do diluente do detector e insira-o na estação do diluente.
- 4) Insira o suporte para cassetes carregado na estação para cassetes.
- 5) Insira o tubo com a amostra na estante para tubos de coleta e coloque-a na estação de amostragem (parte de carregamento).
- 6) Aperte o botão localizado na parte superior da região do número do teste do cassete e selecione o ID Chip que deseja usar.
- 7) Quando o cassete selecionado estiver ativado, configure o número do tubo detector.
- 8) Defina o número de ponteiras na tela.
- 9) Aperte o botão 'Start' na parte superior esquerda na tela principal para iniciar o teste.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O equipamento **ichroma™** calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de IL-6 da amostra em termos de pg/mL.
- Valor de referência: 7 pg/mL.
- Faixa de trabalho: 2 – 2.500 pg/mL.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e validade dos estudos e devem ser realizados em intervalos regulares.
- Os testes de controle deverão ser realizados imediatamente antes de usar um novo lote do teste para garantir que o desempenho do teste não foi alterado.
- Os testes de controle de qualidade devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida em relação a validade dos resultados dos testes e para verificar o desempenho do equipamento.
- Os controles não são fornecidos com o kit **ichroma™ IL-6**. Para mais informações sobre a obtenção de materiais de 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)

0,5 pg/mL

Limite de Detecção (LoD)

1,0 pg/mL

Limite de Quantificação (LoQ)

2,0 pg/mL

■ **Especificidade Analítica**

- **Reatividade cruzada**

As biomoléculas listadas na tabela abaixo foram adicionadas às amostras teste em concentrações muito maiores que os níveis fisiológicos normais do sangue. Os resultados com o teste **ichroma™ IL-6** não apresentaram reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Materiais de reatividade cruzada	Concentração
Interleucina-1α	50 ng/mL
Interleucina-1β	50 ng/mL
Interleucina-2	50 ng/mL
Interleucina-3	50 ng/mL
Interleucina-4	50 ng/mL
Interleucina-8	50 ng/mL
Interleucina-γ	50 ng/mL
TNF-α	50 ng/mL

- **Interferência**

Os materiais interferentes listados na tabela abaixo foram adicionados às amostras nas concentrações descritas na tabela. Os resultados com o teste **ichroma™ IL-6** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Materiais Interferentes	Concentração
Bilirrubina	342 μmol/L
Colesterol	13 mmol/L
D-glicose	55 mmol/L
Hemoglobina	2 g/L
Ácido L-ascórbico	170 μmol/L
Triglicerídeos	37 mmol/L
EDTA	3,4 μmol/L
Heparina	3.000 U/L

■ **Precisão:**

Estudos Unicêntricos

- Repetibilidade (precisão na corrida)
- Precisão total (precisão dentro do laboratório)
- Precisão lote a lote

3 lotes do **ichroma™ IL-6** foram testados durante 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi testado em duplicata.

Conc. [pg/mL]	Repetibilidade		Precisão Total		Lote a Lote	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)	Média	CV (%)
9,00	9,10	5,7	9,11	5,8	9,07	6,1
42,61	43,12	6,2	42,81	6,4	43,07	6,2
1.274	1271,98	6,3	1272,96	6,3	1272,35	6,4

Estudos Multicêntricos

- **Reprodutibilidade**

1 lote do **ichroma™ IL-6** foi testado por 5 dias em 3 locais diferentes (1 pessoa por local, 1 instrumento por local).

Cada material padrão foi testado 1 vez em 5 replicatas por dia.

Conc. [pg/mL]	Estudos Multicêntricos		
	Média [pg/mL]	SD	CV (%)
9,00	9,22	0,55	5,9
42,61	42,28	2,89	6,8
1.274	1272,83	73,61	5,8

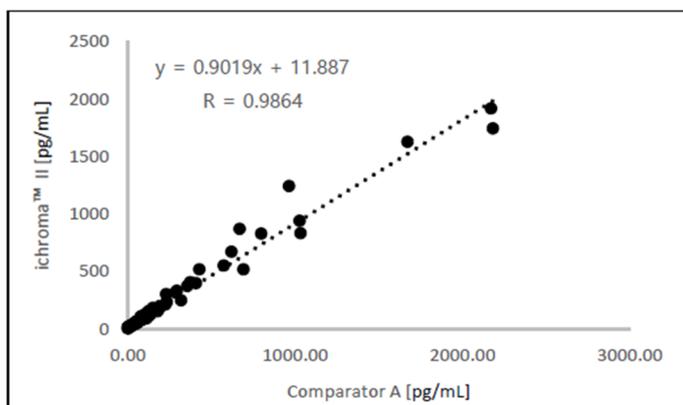
■ **Acurácia**

A exatidão foi confirmada através da testagem de 3 lotes diferentes de **ichroma™ IL-6**. Os testes foram realizados em 10 repetições para cada concentração do padrão de controle.

Valores esperados [pg/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Recuperação (%)
9,00	9,02	8,89	8,69	8,87	98,5
254,80	249,81	257,58	252,00	253,13	99,3
509,60	494,62	472,06	502,36	489,68	96,1
764,40	730,64	739,38	746,37	738,80	96,7
1019,20	1005,76	967,84	1000,54	991,38	97,3
1274,00	1252,09	1256,52	1292,03	1266,88	99,4

Comparabilidade

As concentrações de IL-6 para 110 amostras clínicas foram quantificadas independentemente pelo **ichroma™ IL-6 (ichroma™ II)** e por um Comparador A conforme os procedimentos descritos para cada teste. Os resultados dos testes foram comparados e a comparabilidade foi investigada por regressão linear e por coeficiente de correlação (R). A regressão linear e o coeficiente de correlação entre os dois testes estão descritos abaixo.



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

REFERENCIAS

- Interleukin 6: From bench to bedside. Nishimoto N, Kishimoto T. Nat Clin Pract Rheumatol. 2006 Nov;2(11):619-26.
- The biology of interleukin-6. Kishimoto T. Blood. 1989 Jul;74(1):1-10.
- Interleukin-6: An overview. Van Snick J. Annu Rev Immunol. 1990;8:253-78.
- Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al. Nature. 1986 Nov;324(6092):73-6.
- Interleukin-6 and chronic inflammation. Cem Gabay. Arthritis Research & Therapy 2006, 8(Suppl 2):S3
- Interleukin-6 and the acute phase response. Peter C. HEINRICH, Jose V. CASTELL and Tilo ANDUS. Biochem. J. (1990) 265, 621-636
- Interleukin-6: A sensitive parameter for the early diagnosis of neonatal bacterial infection. Buck C, Bundschu J, Gallati H, Bartmann P, Pohlandt F. Pediatrics 1994;93:54-58.
- Evaluation of IL-6, TNF-alpha and IL-1 beta for early diagnosis of neonatal sepsis. Silveria RC, Procionay RS. Acta Paediatr 1999;88:647-650.
- Significance of serial C-reactive protein responses in neonatal

infection and other disorders. Pourcyrous M, Bada HS, Korones SB, Baselski V, Wong SP. Pediatrics 1993;92:431-435.

- Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis. Doellner H, Arntzen KJ, Haereid PE, Aag S, Austgulen R. J Pediatr 1998;132:295-299.
- What are the Cut-Off Levels for IL-6 and CRP in Neonatal Sepsis? Istemi Han Celik, Fatma Gamze Demirel, Nurdan Uras, Serife Suna Oguz, Omer Erdeve, Zeynep Biyikli, and Ugur Dilmen. Journal of Clinical Laboratory Analysis 24 : 407-412 (2010)

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

	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Consultar as instruções para utilização
	Validade
	Código do lote
	Número de catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado na 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 Inc.

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 Inc.

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 10350840398
SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414
www.biosys.com.br