



# AFIAS IGRA-TB

## USO PRETENDIDO

O **AFIAS IGRA-TB** é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação qualitativa de IFN- $\gamma$  (interferon gama) liberado em resposta ao estímulo *in vitro* do antígeno específico da *Mycobacterium tuberculosis* em sangue total humano. Este teste é útil no auxílio do gerenciamento e monitoramento da Tuberculose.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

## INTRODUÇÃO

A tuberculose (TB) é uma doença crônica causada pela *Mycobacterium tuberculosis* e é uma das mais sérias epidemias do mundo, junto com o HIV e a Malária. Do ponto de vista clínico, a tuberculose está definida em duas fases, TB ativa e TB latente.

A detecção da tuberculose latente é crucial, pois cerca de 10% dos casos dão origem à doença ativa em pacientes imunocomprometidos. O diagnóstico da TB latente, no entanto, não é simples, visto a necessidade de um teste de cultura de micobactérias e de um exame de raio-X de peito. Para diagnosticar a TB latente, podem também ser realizados ensaios *in vitro* em sangue para a determinação do IFN- $\gamma$  (IGRAS) liberado na resposta celular imune pelas células T após o estímulo de antígenos específicos da *M. tuberculosis* (ESAT-6 e CFP-10).

**AFIAS IGRA-TB** é o primeiro sistema de fluxo lateral dos ensaios IGRA, o que significa que é o teste mais simples e rápido. É útil como auxiliar na exclusão das tuberculoses.

## PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção do tipo sanduíche com fluorescência do Európio (Eu).

Os anticorpos detectores presentes no tampão se ligam aos antígenos presentes na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo que migram para a matriz de nitrocelulose para ser capturado pela estreptavidina imobilizada na tira de teste.

Quanto mais antígenos estiverem presentes na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo serão acumulados na tira teste, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência dos anticorpos detectores, a qual é processada no instrumento para testes AFIAS mostrando o resultado 'Positivo' ou 'Negativo' da amostra para TB latente.

## COMPONENTES

O kit **AFIAS IGRA-TB** consiste em 'cartuchos'.

- Cada invólucro de alumínio selado contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em um invólucro de alumínio contém três componentes incluindo a parte do cartucho, a parte do tampão de detecção e a parte do diluente.
- A parte do cartucho contém a membrana chamada tira teste, que contém estreptavidina na linha de teste e IgY de galinha na linha controle.
- A parte de detecção possui dois grânulos contendo conjugado anti-IFN- $\gamma$  fluorescente, conjugado anti-IFN- $\gamma$  botina e conjugado anti-IgY de galinha fluorescente.
- A parte do diluente contém Tween 20 como detergente, em Tris-HCl.

## ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico *in vitro*.
- Siga cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nesta 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 (cartucho e ID chip) 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 cartuchos. Um cartucho deve ser utilizado para o teste de apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer selado em seu invólucro original até imediatamente antes do uso. Não use o cartucho caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas (plasma) devem ser descongeladas uma única vez. Para o transporte, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise e/ou hiperlipemia severas não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, **deixe o cartucho e a amostra atingirem a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes de sua utilização.**
- Os instrumentos para testes AFIAS podem gerar leve vibração durante o uso.
- Os cartuchos e ponteiras usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado conforme as normas locais.
- O cartucho contém azida sódica (NaN<sub>3</sub>), que pode causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e falha 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 o kit **AFIAS IGRA-TB** quando a concentração de biotina na amostra estava abaixo de 200 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 **AFIAS IGRA-TB** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
  - O kit **AFIAS IGRA-TB** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.
  - Deve ser usado somente com os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulantes recomendados

Heparina lítica

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado(s) 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(s) 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 confirmado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

## ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condições de armazenagem			
Componente	Temperatura	Validade	Observação
Cartucho	2 - 30°C	20 meses	Fechado
		1 mês	Aberto

- Coloque o cartucho não utilizado na embalagem zipperbag para cartucho sobressalente contendo dessecante. Sele novamente ao longo de toda a borda do zíper.

## MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS IGRA-TB**:

- Caixa do cartucho:
  - Cartuchos 24
  - Ponteiras (zipperbag) 24
  - Embalagem zipperbag para cartucho sobressalente 1
  - ID chip 1
  - Instruções de uso 1

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os seguintes itens podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS IGRA-TB**:

- Instrumento para testes AFIAS

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

- **Boditech IGRA-TB Control**

- **ichroma™ IGRA-TB tube**

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

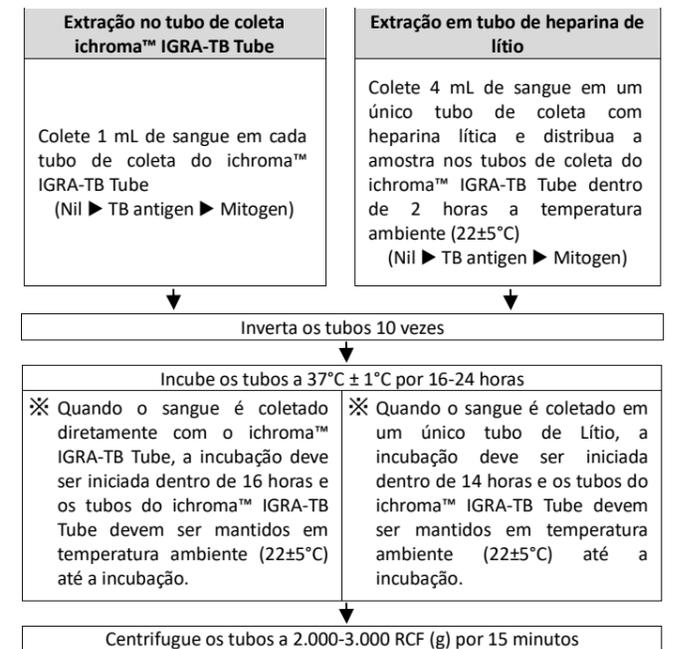
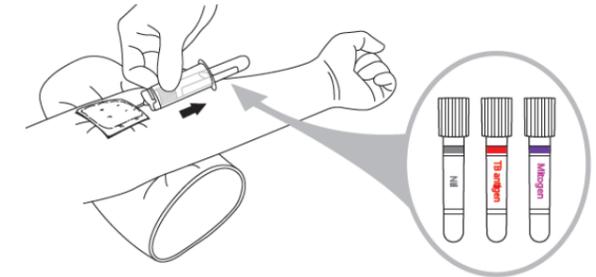
## COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra para **AFIAS IGRA-TB** é plasma em heparina lítica, com preparo demonstrado abaixo.

- Para cada paciente, colete 1 mL de sangue por venopunção diretamente em cada tubo de coleta **ichroma™ IGRA-TB Tube**.
- A linha preta na lateral do tubo indica a faixa entre 0,8 e 1,2 mL. Se o nível de sangue no tubo desviar dessa faixa indicativa, uma nova amostra de sangue deve ser colhida.
- Colete 1 mL de sangue em cada um dos tubos na seguinte ordem: **ichroma™ IGRA-TB Nil** (cinza), **TB antigen** (vermelho) e **Mitogen** (roxo), e inverta cada tubo gentilmente 10 vezes, para que o aditivo e a amostra de sangue se misturem.
- Inverta bem para certificar que todo o conteúdo do tubo foi coberto com a amostra de sangue.
- Caso a amostra seja misturada vigorosamente, pode ocorrer hemólise e divisão do gel, o que pode levar a resultados incorretos.
- Preencha as informações do paciente na etiqueta do tubo.
- Após a coleta, o sangue deve ser armazenado em uma incubadora (37 ± 1°C) imediatamente ou dentro de 16 horas.
- Antes da incubação, mantenha e transporte os tubos à temperatura ambiente (22 ± 5°C).
- Caso a amostra não seja incubada imediatamente, mas em até 16 horas após a coleta, inverta o tubo gentilmente 10 vezes, novamente, antes de incubá-lo.
- A incubação deve ser realizada com o tubo na vertical, dentro de 16 horas após a coleta, à 37 ± 1°C, durante 16-24 horas.
- ❖ **Se o método descrito acima não for seguido, poderão ocorrer erros nos resultados.**
- Após a incubação, centrifugue o tubo com o sangue coletado a 2.000~3.000 RCF (g) durante 15 minutos.
- Após a incubação, a centrifugação deverá ser realizada imediatamente para a obtenção do plasma.

## Armazenamento da amostra:

- O tubo centrifugado pode ser armazenado por até 1 semana entre 2°C e 8°C antes da extração do plasma e, se extraído, deve ser armazenado por até 1 mês abaixo de -20°C.
- Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento podem afetar o resultado do teste, não congele novamente amostras previamente congeladas.
- Amostras contendo precipitados devem ser clarificadas por centrifugação antes da análise.



## CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS IGRA-TB** conforme descrito a seguir: cartuchos, ponteiras, um ID Chip, uma embalagem zipperbag para cartucho sobressalente e instruções de uso.
- Assegure que o número do lote dos cartuchos equivale ao do ID Chip.
- Caso o cartucho selado tenha sido armazenado sob refrigeração, coloque-o sobre uma superfície plana e limpa em temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste.
- Ligue o instrumento para testes AFIAS.
- Esvazie a caixa de ponteiras.
- Insira o ID chip na porta do ID Chip no leitor.
- ❖ **(Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes AFIAS para obter informação completa e instruções de operação.)**

## PROCEDIMENTO DO TESTE

- **AFIAS-6**  
Modo IGRA-TB

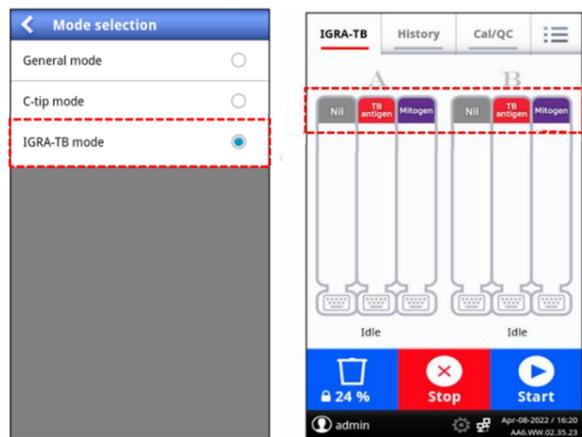
- 1) Para selecionar o 'IGRA-TB Mode' (Modo IGRA-TB), escolha o 'General Mode' (Modo Geral) ou 'C-tip Mode' (Modo C-tip) no instrumento após ligá-lo.

## Instruções de Uso

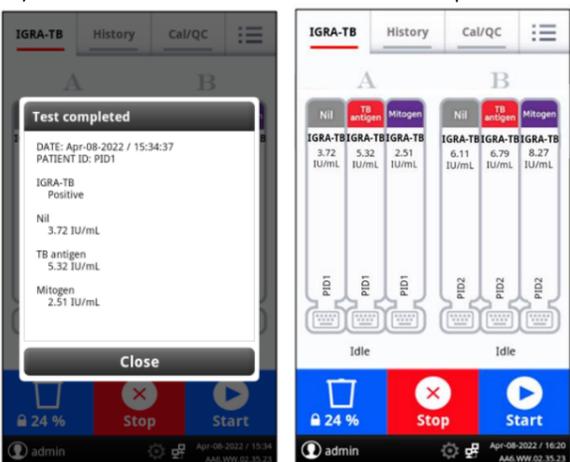
Somente para uso diagnóstico *in vitro*

- Troque o modo selecionando o 'IGRA-TB Mode' no menu de configuração

\*Pressione o botão do menu de configuração. → Clique em 'Mode change' (Mudar Modo) → Selecione 'IGRA-TB Mode'



- Rotule os 3 cartuchos de acordo com a sequência do teste: Nil, TB antigen e Mitogen.  
Ex.: N para Nil, A para TB antigen, M para Mitogen
- Pegue **100 µL da amostra (plasma em heparina lítica/controle)** utilizando uma pipeta e dispense-a no poço para amostra do cartucho.
- Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- Insira uma ponteira no orifício para ponteiras do cartucho.
- Coloque o mesmo PID (ID do paciente) para os tubos Nil, TB antigen e Mitogen, respectivamente.  
\*Se forem colocados diferentes PIDs, os resultados não poderão ser interpretados.
- Após inserir o PID, selecione o tipo de amostra.
- Aperte o botão 'START' (Começar) na tela.
- Os resultados do teste serão exibidos na tela após 15 minutos.



### AFIAS-3

#### Modo IGRA-TB

- Selecione o 'IGRA-TB Mode' (Modo IGRA-TB) no topo da tela.
- O procedimento do teste é o mesmo que em AFIAS-6 (Consulte do item 3) ao item 10) no procedimento de teste do AFIAS-6).

### AFIAS-10

#### Modo Normal

Este modo é utilizado quando se utilizam os tubos de coleta **ichroma™ IGRA-TB Tubes**.

- Anexe um rótulo contendo código de barras com as informações do paciente (ex. PID) à parede do tubo contendo a amostra, obtida de acordo com o item 'COLETA E

### PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS.

\*Os rótulos contendo código de barras anexados aos 3 tubos (Nil, TB antigen e Mitogen) devem ser iguais. O teste não poderá ser realizado se os códigos de barra não forem correspondentes.

- Coloque os tubos processados na estante para tubos, sequencialmente.

\*Nil (cinza) ▶ TB antigen (vermelho) ▶ Mitogen (roxo)



- Insira a estante para tubos no suporte.
- Rotule os 3 cartuchos de acordo com a sequência do teste: Nil, TB antigen e Mitogen.  
Ex.: N para Nil, A para TB antigen, M para Mitogen
- Insira os cartuchos no suporte para cartuchos.
- Insira uma ponteira no suporte ou orifício para ponteiras do cartucho.
- Aperte o botão 'Load' (Carregar) da estação onde está o cartucho com a ponteira para realizar a leitura do código de barras no cartucho. Confirme o nome do item escrito no cartucho.
- Aperte o botão 'Start' (Iniciar) na tela.
- Os resultados do teste serão exibidos na tela após 15 minutos.

### Modo Emergência

Este modo é utilizado quando se dispensa a amostra no poço para amostra do cartucho.

- Rotule 3 cartuchos com a sequência do teste: Nil, TB antigen e Mitogen.  
Ex.: N para Nil, A para TB antigen, M para Mitogen
- Pegue **100 µL da amostra (plasma em heparina lítica/controle)** utilizando uma pipeta e dispense-a no poço para amostra do cartucho.
- Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- Insira uma ponteira no suporte ou orifício para ponteiras do cartucho.
- Aperte o botão 'Load' (Carregar) da estação onde está o cartucho com a ponteira para realizar a leitura do código de barras no cartucho. Confirme o nome do item escrito no cartucho.
- Converta para 'Emergency mode' (Modo Emergência) e coloque o mesmo PID para Nil, TB antigen e Mitogen, respectivamente.  
\*Se forem colocados diferentes PIDs, o teste não poderá ser iniciado.
- Aperte o botão 'Start' (Iniciar) na tela.
- Os resultados do teste serão exibidos na tela após 15 minutos.

### INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de IGRA-TB da amostra em termos de IU/mL.

Nil (IU/mL)	TB Antigen menos Nil (IU/mL)	Mitogen menos Nil (IU/mL)	AFIAS IGRA-TB (IU/mL)	Relatório/ Interpretação
<0,35	<0,35	≥0,5		Infecção por <i>M. tuberculosis</i> improvável
≥0,35 e <25% do valor Nil	≥0,35 e <25% do valor Nil	≥0,5	<b>Negativo</b>	

do valor Nil	Nenhum	Positivo	Provável infecção por <i>M. tuberculosis</i>
≥0,35 e ≥25% do valor Nil	Nenhum	Positivo	Provável infecção por <i>M. tuberculosis</i>
<0,35	<0,5		Resultado
≥0,35 e <25% do valor Nil	<0,5	<b>Indeterminado</b>	Indeterminado para responsividade ao antígeno TB
>8,0	Nenhum	Nenhum	

### CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade (CQ) 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 CQ deverão ser realizados quando houver dúvidas referentes à validade dos resultados dos testes.
- Os controles são fornecidos sob demanda com o kit **AFIAS IGRA-TB**. Para mais informações sobre a obtenção dos materiais de controle de qualidade, entre em contato com a [BioSys Ltda.](#) (Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle.)

### CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

#### Sensibilidade analítica

- LoB (Limite do Branco) 0,02596 IU/mL
- LoD (Limite de Detecção) 0,093 IU/mL

#### Especificidade analítica

##### Reatividade cruzada

A biomoléculas apresentadas na tabela abaixo foram adicionadas à amostra de teste em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados dos testes de **AFIAS IGRA-TB** não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material de interferência	Concentração (ng/mL)
Fator de necrose tumoral-α (TNF-α)	100
Fator de necrose tumoral-β (TNF-β)	100
Interleucina-2 (IL-2)	100
Interleucina-4 (IL-4)	100
Interleucina-6 (IL-6)	100
Interleucina-10 (IL-10)	100
Interleucina-17 (IL-17)	100
Interleucina-23 (IL-23)	100
Interleucina-27 (IL-27)	100

#### Interferência

Os materiais de interferência listados na tabela abaixo foram adicionados às amostras em testes conforme as concentrações apresentadas. Os resultados dos testes **AFIAS IGRA-TB** não mostraram qualquer interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
Heparina lítica	100.000 U/L
Hemoglobina	2 mg/mL
Albumina de soro bovino (BSA)	60 mg/mL
Bilirrubina	0,24 mg/mL (400 µM)
Triglicerídeos	1,5 mg/mL
Colesterol	7,7 mg/mL

#### Precisão

- Imprecisão geral**  
Os materiais padrão foram testados com 3 lotes diferentes de **AFIAS IGRA-TB**, pelo mesmo operador, no mesmo local, 2 vezes ao dia (manhã/tarde) por 20 dias. Para cada corrida, as amostras foram testadas em duplicata.
- Entre pessoas**  
Os materiais padrão foram testados com 1 lote do **AFIAS IGRA-TB**, por três operadores diferentes, no mesmo local, 2 vezes ao dia (manhã/tarde) por 5 dias.
- Entre locais**  
Os materiais padrão foram testados com 1 lote do **AFIAS IGRA-TB**, pelo mesmo operador, em três locais diferentes, 2 vezes ao dia (manhã/tarde) por 5 dias.
- Entre leitores**  
Os materiais padrão foram testados com 1 lote do **AFIAS IGRA-TB**,

pelo mesmo operador, no mesmo local, com três leitores diferentes, 2 vezes ao dia (manhã/tarde) por 5 dias.

Padrão (N°)	Imprecisão geral		Entre pessoas	
	N° de Positivos /N° Total	Taxa positiva	N° de Positivos /N° Total	Taxa positiva
Padrão 1	0/240	0%	0/30	0%
Padrão 2	240/240	100%	30/30	100%
Padrão 3	240/240	100%	30/30	100%

Padrão (N°)	Entre locais		Entre leitores	
	N° de Positivos /N° Total	Taxa positiva	N° de Positivos /N° Total	Taxa positiva
Padrão 1	0/30	0%	0/30	0%
Padrão 2	30/30	100%	30/30	100%
Padrão 3	30/30	100%	30/30	100%

#### Desempenho clínico

AFIAS IGRA-TB	Reagente de confirmação		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	55	2	57
Negativo	10	114	124
Total	65	116	181

- Sensibilidade clínica: 84,6% (95% CI, 78,5 – 90,7%)
- Especificidade clínica: 98,3% (95% CI, 96,7 – 99,8%)
- Taxa de concordância total: 93,4% (95% CI, 90,5 – 96,3%)
- Kappa Cohen (k): 0,843

### 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 sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

### REFERÊNCIAS

- Global Tuberculosis Report 2017, WHO, 2017.
- Uplekar M. et. al., WHO's new End TB strategy, Lancet, 2015
- Fengjiao Du. et. al., Prospective comparison of QFT-GIT and T-SPOT.TB assays for diagnosis of active tuberculosis, Scientific Reports, 2017
- Lina Yi. et. al., Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for Detection of Mycobacterium tuberculosis infection in Japan, Scientific Reports, 2016
- Target Product Profile: Test for incipient tuberculosis, FIND, 2016
- John Z. et. al., Test variability of the QuantiFERON-TB Gold In Tube assay in clinical practice, American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, 2013
- Mahomed, H., et al. "Comparison of Mantoux skin test with three generations of a whole blood IFN-γ assay for tuberculosis infection." The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease 10.3 (2006): 310-316.
- ECDC. 2011. Use of interferon-gamma release assays in support of TB diagnosis

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

	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Consultar as instruções para utilização
	Validade
	Código do lote
	Número de catálogo

### Instruções de Uso

Somente para uso diagnóstico *in vitro*

	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, 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**  
**Anvisa – nº 10350840460**  
**SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414**  
**[sac@biosys.com.br](mailto:sac@biosys.com.br) [www.biosys.com.br](http://www.biosys.com.br)**