

Infection

AFIAS IL-6

USO PRETENDIDO

O **AFIAS IL-6** é um imunoensaio fluorescente (FIA) automatizado para determinação quantitativa de IL-6 (interleucina-6) em sangue total/soro/plasma humano. Este teste é útil como auxílio no diagnóstico de doenças inflamatórias. Somente para uso em 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 uma massa molecular de 21 a 28 kDa e é composta de 212 aminoácidos, incluindo dois possíveis sítios de N-glicosilação e quatro resíduos de cisteína.

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

A IL-6 é o principal regulador da resposta de fase aguda em hepatócitos humanos. Devido a sua ação pleiotrópica, a IL-6 tem sido intensamente estudada em muitos laboratórios. Foi identificada como fator importante no sistema imunológico e hematopoiético e o principal mediador na resposta hepática de fase aguda.

A IL-6 é uma das citocinas pró-inflamatórias e é detectada no soro nos estágios iniciais das infecções. Particularmente, em infecções bacterianas, os níveis de IL-6 podem ser maiores que os níveis de PCR nos estágios iniciais da doença, o que pode ser útil para diagnósticos precoces. No início da infecção, o nível de PCR pode ser baixo, mas medições em série podem fornecer resultados úteis e ajudar na decisão de quando interromper o tratamento com antibióticos. A combinação de IL-6 e PCR demonstrou recentemente ser útil no diagnóstico precoce de sepse em recém-nascidos.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodetecção do tipo sanduíche, com fluorescência do Európico (Eu).

Os anticorpos detectores presentes no tampão se ligam aos抗原os presentes na amostra, formando complexos抗原-anticorpo, que migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pela glutaraldeído-estreptavidina imobilizada na tira de teste.

Mais抗原os presentes na amostra levarão a maior formação de complexos抗原-anticorpo, o que leva a um maior sinal de fluorescência pelos anticorpos detectores, o que é

processado pelo instrumento para testes AFIAS para mostrar a concentração de IL-6 na amostra.

COMPONENTES

O kit AFIAS IL-6 consiste em 'Cartuchos'.

- Cada invólucro de alumínio selado contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em um invólucro de alumínio possui três componentes, incluindo uma parte do cartucho, parte do detector e parte do diluente.
- A parte do cartucho contém uma membrana chamada tira teste, que possui glutaraldeído-estreptavidina na linha teste, e IgY de galinha na linha controle.
- A parte do detector possui 2 grânulos contendo conjugado fluorescente Anti-Interleucina-6, conjugado fluorescente Anti-Interleucina-6-biotina, conjugado fluorescente Anti-IgY de galinha e azida sódica como conservante em tampão Tris e tampão fosfato-salino (PBS).
- A parte do diluente contém azida sódica como conservante em tampão Tris.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Siga as instruções e procedimentos descritos nesta 'Instrução de Uso'.
- Manuseie todas as espécimes como capazes de conter agentes infecciosos.
- Devido ao risco de infecção, é recomendado utilizar equipamentos de proteção individual (EPI), incluindo máscara e luvas, e manusear as espécimes e amostras com o máximo de cuidado durante a realização do teste.
- Use somente amostras frescas e evite exposição solar direta.
- O número de lote de todos os componentes do teste (cartucho e ID Chip) deve ser correspondente.
- Não misture componentes do teste de diferentes lotes ou use os componentes do teste após a data de validade, pois em qualquer um dos casos poderá ocorrer resultados incorretos.
- Não reutilize os cartuchos. Um cartucho deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- Não reutilize as ponteiras. Reutilizar ponteiras pode levar a contaminação cruzada, levando a resultados incorretos.
- O cartucho deve permanecer selado em seu invólucro original até antes do uso. Não use o cartucho caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- Amostras congeladas devem ser descongeladas apenas uma 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 do teste e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, **permita que o cartucho e a amostra permaneçam a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.**
- O instrumento para testes AFIAS pode vibrar levemente durante o uso.
- Os cartuchos, C-tips e ponteiras usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado conforme as normas locais relevantes.

- O cartucho contém azida sódica (NaN_3), 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.

- Não foi observada interferência por biotina com **AFIAS IL-6** quando a concentração de biotina na amostra foi abaixo de 5 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 IL-6** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
 - **AFIAS IL-6** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.
 - Deve ser usado somente com os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulantes recomendados

$\text{K}_2 \text{ EDTA}$, $\text{K}_3 \text{ EDTA}$, Heparina lítica

- 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 total deve ser imediatamente testado após a coleta.
 - Não realizar um teste com o C-tip no 'Modo Geral'. Pode levar a um resultado errado.
 - O excesso de sangue ao redor do C-tip deve ser limpo.
 - Para evitar contaminação cruzada, não reutilize de a ponteira C-tip para várias amostras.
 - 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 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 devido à não responsividade do antígeno aos anticorpos, o que é mais comum onde o epítopo 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

- Retorne o cartucho não utilizado para o zipperbag para cartucho sobressalente contendo dessecante. Sele

novamente a embalagem através do zíper presente na borda.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS IL-6**:

■ Caixa do cartucho:	
- Cartuchos	24
- Ponteiras	24
- Zipperbag para cartucho sobressalente	1
- ID chip	1
- Instrução de uso	1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS IL-6**.

■ Instrumento para testes AFIAS

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

■ Boditech IL-6 Calibrator

■ C-tip (30 μL , zipperbag)

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

COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRA

O tipo de amostra para **AFIAS IL-6** é sangue total/soro/ plasma humano.

- É recomendado testar as amostras (sangue total, soro, plasma) dentro de 24 horas após a coleta quando forem armazenadas em temperatura ambiente.
- As amostras (soro, plasma) devem ser separadas do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (sangue total, soro, plasma) podem ser armazenadas por uma semana a 2-8°C antes da realização do teste. Se um período maior que uma semana de armazenamento for necessário, as amostras (soro, plasma) devem ser congeladas a -20°C.
- As amostras (soro, plasma) congeladas a -20°C por 3 meses não apresentam diferença de desempenho.
- Entretanto, amostras de sangue total não devem ser congeladas em nenhuma hipótese.
- Uma vez que repetidos ciclos de congelamento e descongelamento podem afetar os resultados do teste, não congele novamente amostras previamente descongeladas.
- Coleta do sangue total usando uma C-tip:
 - ① Segure a ponta da C-tip horizontalmente e toque na superfície do sangue com a C-tip.
 - ② A ação da capilaridade irá automaticamente retirar a amostra de sangue para a ponta da C-tip e parar.
 - ③ Limpe o excesso de sangue ao redor da ponteira.
 - ④ Verifique duas vezes se o sangue total está preenchido corretamente na C-tip e se o equipamento AFIAS está pronto para uso no 'Modo C-tip'.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS IL-6**: Cartuchos, ponteiras, um ID chip, uma zipperbag para cartucho sobressalente e uma instrução de uso.
- Assegure que o número de lote do cartucho é correspondente ao número de lote do ID chip.

- Caso o cartucho selado tenha sido armazenado sob refrigeração, coloque-o em uma superfície limpa e plana em temperatura ambiente por ao 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 para ID chip' do equipamento.
- Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes AFIAS para obter as informações completas e instruções de operação.**

PROCEDIMENTO DO TESTE

► AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6

Modo Geral

- 1) Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- 2) Insira uma ponteira no orifício de ponteiras no cartucho.
- 3) Selecione o 'Modo Geral' no instrumento AFIAS.
- 4) Transfira 100 μ L da amostra (sangue total/soro/plasma/ controle) com auxílio de uma pipeta para o poço de amostras do cartucho.
- 5) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/ plasma) na tela.
- 6) Pressione o botão 'Start' na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo C-tip

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Pegue 30 μ L de sangue total usando C-tip.
- 3) Insira a C-tip contendo o sangue total no orifício para ponteiras no cartucho.
- 4) Selecione 'Modo C-tip' no instrumento AFIAS.
- 5) Selecione o ícone 'START' na tela.
- 6) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

► AFIAS-10

Modo Normal

- 1) Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- 2) Insira uma ponteira no orifício para ponteiras do cartucho.
- 3) Aperte o botão 'Load' na parte que contém o cartucho com a ponteira para ler o código de barras do cartucho e confirme o nome do item escrito no cartucho.
- 4) Insira o tubo de amostra na estante para tubos.
- 5) Insira a estante para tubos na parte de carregamento da estação de amostragem.
- 6) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
- 7) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 8) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo Emergência – Ponteira geral

- 1) O procedimento do teste é o mesmo que o 'Modo Normal' do item 1) ao item 3).
- 2) Converta para o 'Modo Emergência' no AFIAS-10.
- 3) Selecione o tipo de ponteira (ponteira geral) na tela.
- 4) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/ plasma) na tela.
- 5) Transfira 100 μ L da amostra com auxílio de uma pipeta para o poço de amostras do cartucho.
- 6) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo Emergência – C-tip

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Pegue 30 μ L de sangue total usando C-tip.
- 3) Insira a C-tip contendo a amostra no orifício para ponteiras no cartucho.
- 4) Selecione o botão 'Carregar' na parte que contém o cartucho para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- 5) Passe para o 'Modo de Emergência' no equipamento.
- 6) Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
- 7) Selecione o ícone 'START' na tela.
- 8) O resultado 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 de IL-6 da amostra teste em termos de pg/mL.
- Faixa de medição: 2 - 2.500 pg/mL.
- Intervalo de referência: 7 pg/mL

CONTROLE DE QUALIDADE

- Rastreabilidade: Este método foi padronizado segundo o Padrão Internacional para Interleucina-6 (IL-6) da OMS, 2^a edição (código NIBSC: 21/308).
- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- O controle de qualidade também deve ser realizado sempre que houver alguma dúvida em relação à validade dos resultados.
- Os materiais de controle não são fornecidos com o kit AFIAS IL-6. Para mais informações sobre a obtenção dos controles, entre em contato com a BioSys Ltda.

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

Biomoléculas como as listadas na tabela a seguir foram adicionadas as amostras teste em concentrações muito maiores que os níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados de teste obtidos com o AFIAS IL-6 não mostraram reatividade cruzada significante com as essas biomoléculas.

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

Interferência

Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados às amostras teste nas concentrações descritas abaixo. Os resultados obtidos com o AFIAS IL-6 não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

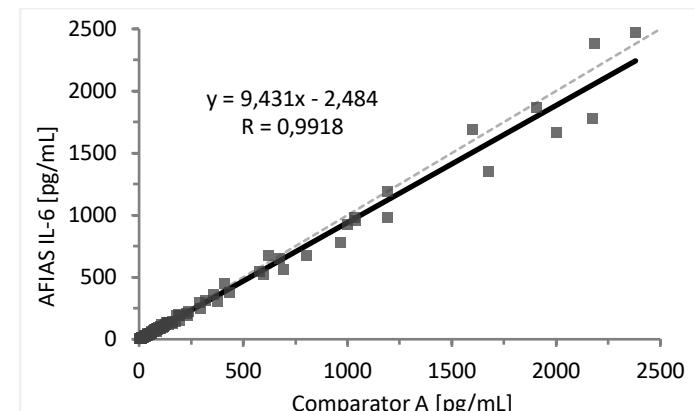
Interferentes	Concentração
Bilirrubina (conjugada)	475 μ mol/L
Colesterol	13 mmol/L
D-Glicose	55,5 mmol/L
Hemoglobina	10 g/L
L-Ácido ascórbico	298 μ mol/L
Triglicerídeos	37 mmol/L
EDTA	3,4 μ mol/L
Heparina	3.300 units/L

Comparabilidade

A concentração de IL-6 de 118 amostras clínicas foi quantificada independentemente com AFIAS IL-6 (AFIAS-6) e um **Comparador A**, conforme indicado nos procedimentos de teste. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade investigada por regressão linear e pelo coeficiente de correlação (R). A equação de regressão e coeficiente de correlação estão apresentados a seguir.

*Linha sólida: regressão linear do AFIAS IL-6

*Linha tracejada: $y = x$



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

1. Interleukin 6: From bench to bedside. Nishimoto N, Kishimoto T. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2006 Nov;2(11):619-26.
2. The biology of interleukin-6. Kishimoto T. *Blood*. 1989 Jul;74(1):1-10.
3. Interleukin-6: An overview. Van Snick J. *Annu Rev Immunol*. 1990;8:253-78.
4. 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.
5. Interleukin-6 and chronic inflammation. Cem Gabay. *Arthritis Research & Therapy* 2006, 8(Suppl 2):S3
6. Interleukin-6 and the acute phase response. Peter C. HEINRICH, Jose V. CASTELL and Tilo ANDUS. *Biochem J*. (1990) 265, 621-636
7. 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.
8. 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.
9. 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.

10. Interleukin-6 concentrations in neonates evaluated for sepsis.
Doellner H, Arntzen KJ, Haereid PE, Aag S, Austgulen R. J Pediatr 1998;132:295-299.
11. What are the Cut-Off Levels for IL-6 and CRP in Neonatal Sepsis? Istem 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 de uso
	Validade
	Data de fabricação, Feito na Coreia do Sul
	Código do lote
	Número do catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Importador
	Distribuidor
	Representante autorizado na Comunidade Europeia
	Produto para a saúde para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Dispositivo não destinado a autoteste
	Límite de temperatura
	Não reutilizar

Qualquer incidente sério relacionado a este produto deve ser informado a BioSys LTDA e as autoridades locais competentes.

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

IVD

Fabricante: Boditech Med Incorporated
Regularizado por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ
CEP: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
Anvisa: 10350840459
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br