

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*



USO PRETENDIDO

O **ichroma™ PTH** é um imunoensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa de PTH (Hormônio Paratireoidiano) em sangue total/soro/plasma humano. Este teste é útil no auxílio ao diagnóstico diferencial de hiperparatireoidismo ou hipoparatireoidismo.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

O hormônio paratireoidiano é um hormônio polipeptídico de cadeia única constituído de 84 aminoácidos, com aproximadamente 9,5 kDa de peso molecular, que é secretado pelas células principais da glândula Paratireoide. Consiste em um importante regulador da remodelação óssea, além de participar na resposta homeostática às alterações nas concentrações de cálcio plasmático.^[1]

O PTH é biossintetizado como um hormônio pré-pro-paratireoidiano, uma molécula precursora composta de 115 aminoácidos. Após duas etapas de clivagem proteolítica intracelular, a glândula paratireoide secreta a forma final ativa de 84 aminoácidos, também chamada de forma intacta. O PTH intacto é biologicamente ativo e é excretado da circulação rapidamente, com uma meia vida de menos de quatro minutos.

Em indivíduos saudáveis, a regulação da secreção do hormônio paratireoidiano normalmente ocorre através de uma ação de feedback negativo do cálcio sérico nas glândulas paratireoidianas. Os ensaios de PTH intacto são importantes para a diferenciação de hiperparatireoidismo primário de outras causas de hipercalcemia (não mediadas pela paratireoide), tal como malignidades, sarcoidose e tireotoxicose. A medição do hormônio paratireoidiano corresponde à forma mais específica de diagnosticar o hiperparatireoidismo primário. Na presença de hipercalcemia, níveis elevados de hormônio paratireoidiano caracterizam, virtualmente, o diagnóstico. A elevação do hormônio paratireoidiano é observada em mais de 90% dos pacientes com hiperparatireoidismo. Uma outra causa bem comum de hipercalcemia, chamada de hipercalcemia de malignidade, é associada a níveis suprimidos de hormônio paratireoidiano ou níveis de PTH dentro do intervalo de normalidade.^[2, 3, 4]

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodetecção tipo sanduíche.

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

Quanto mais抗ígenos estiverem presentes na amostra, mais complexos抗ígeno-anticorpo serão acumulados na tira teste, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência dos anticorpos detectores, a qual é processada pelos instrumentos para testes ichroma™ mostrando a concentração de PTH na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma™ PTH** consiste em 'Cassetes', 'Tubos Detectores' e 'Diluente do Detector'.

- O cassette contém uma membrana chamada tira teste, que apresenta estreptavidina nas duas linhas de teste, e IgY de galinha na linha controle. Todos os cassetes estão selados individualmente em um invólucro de alumínio contendo um dessecante, e esses

invólucros estão embalados em uma caixa.

- O tubo detector contém um grânulo que possui conjugado fluorescente anti-PTH, conjugado anti-PTH-biotina, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha e azida sódica em tampão fosfato-salino (PBS) como conservante. Todos os tubos detectores estão embalados em um invólucro.
- O diluente do detector contém teritol e tween 20 como detergente e azida sódica como conservante em tampão HEPES, e é pré-dispensado em um frasco. O diluente do detector é embalado em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente para diagnóstico *in vitro*.
- Siga cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos nestas 'Instruções 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, tubo detector, diluente do detector 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 ocorrer resultados incorretos.
- Não reutilize cassetes ou tubos detectores. Um 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 somente uma vez. Para o transporte, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise e/ou hiperlipemias severas não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, deixe o cassete, o tubo detector, o diluente do detector e a amostra atingirem a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes de sua utilização.
- Os instrumentos para testes ichroma™ podem vibrar suavemente durante o uso.
- Os cassetes, tubos detectores, diluente do detector e ponteiras usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado de acordo com a legislação local.
- O tubo detector e o diluente do detector contêm azida sódica (NaN_3), 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 a pele, com os olhos e com a vestimenta. Em caso de contato, limpe o local imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência por biotina no teste **ichroma™ PTH** quando a concentração de biotina na amostra foi de até 100 ng/mL. Se o paciente estiver ingerindo biotina em uma dosagem maior que 0,03 mg/dia, recomenda-se que o teste seja realizado 24 horas após a descontinuação da administração da biotina.
- O kit **ichroma™ PTH** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
 - O kit **ichroma™ PTH** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes ichroma™.
 - Deve-se utilizar somente os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulante Recomendado
K2 EDTA, Heparina Sódica, Heparina Lítica

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抗ígeno aos anticorpos é mais comum onde o epítopo é mascarado por algum componente desconhecido, de modo a não ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*

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 incluir a avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condições de Armazenamento			
Componente	Temperatura	Validade	Observação
Cassete	2-30°C	20 meses	Uso único
Tubo detector	2-30°C	20 meses	Uso único
Diluente do detector	2-30°C	20 meses	Fechado
	2-8°C	12 meses	Aberto

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

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma™ PTH**

■ Caixa do Cassete:

- Cassetes	25
- Tubos Detectores	25
- Diluente do Detector	1
- ID Chip	1
- Instruções de uso	1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os seguintes itens podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma™ PTH**:

■ Instrumento para testes **ichroma™**:

- **ichroma™ II**
- **ichroma™ III**
- **ichroma™ M2**
- **ichroma™ 50 Plus**

■ Boditech PTH Control

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

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

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

- É recomendado testar as amostras dentro de 6 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 um dia a 2-8°C antes da realização do teste. Se o teste será realizado após um período maior que um dia, as amostras (soro, plasma) devem ser congeladas a -20°C.
- As amostras (soro, plasma) armazenadas congeladas a -20°C por até 3 meses não apresentam diferença de desempenho.
- Entretanto, amostras de sangue total não devem ser congeladas em nenhuma circunstância.
- Uma vez que o congelamento e descongelamento sucessivos podem resultar em mudanças nos valores do teste, não se deve congelar novamente amostras previamente descongeladas.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma™ PTH**: Cassetes selados, Tubos Detectores, Diluente do Detector, ID Chip e Instruções de Uso.
- Assegure que o número do lote do cassete é o mesmo do tubo

detector, do diluente do detector, assim como o do ID Chip.

- Caso o cassete selado, tubo detector e diluente do detector estiverem armazenados sob refrigeração, coloque-os em uma superfície limpa e plana em temperatura ambiente por ao menos 30 minutos antes de sua utilização.
- Ligue o equipamento para testes **ichroma™**.
- Insira o ID Chip na ‘porta para ID Chip’ do instrumento.
※ (Favor consultar o Manual de Operações do instrumento para testes **ichroma™** para obter informação completa e instruções de operação.)

PROCEDIMENTO DO TESTE

► **ichroma™ II / ichroma™ M2**

Modo multi teste/ Modo Read now

- 1) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
- 2) Transfira 120 µL do diluente do detector com o auxílio de uma pipeta para o tubo detector contendo um grânulo. Quando o grânulo estiver completamente dissolvido no tubo, significa que o tampão de detecção foi formado.
(O tampão de detecção deve ser usado imediatamente. Não exceda o tempo de 30 segundos).
- 3) Transfira 50 µL de amostra (sangue total/soro/plasma/control) utilizando uma pipeta para o tubo detector.
- 4) Feche a tampa do tubo detector e misture a amostra completamente, agitando-a cerca de 10 vezes.
(A mistura da amostra deve ser usada imediatamente. Não exceda o tempo de 30 segundos).
- 5) Pipete 75 µL da mistura da amostra e dispense-a no poço de amostra do cassete.
- 6) Mantenha o cassete à temperatura ambiente por 12 minutos.

 Escaneie o cassete carregado com a amostra imediatamente após o término do tempo de incubação. Caso não seja feito, poderão ocorrer resultados inexatos.

- 7) Para realizar a leitura do cassete carregado com a amostra, insira-o no suporte do cassete do instrumento para testes **ichroma™**. Verifique a posição adequada do cassete antes de inseri-lo completamente no suporte do cassete. Uma seta está marcada no cassete especialmente para este propósito.
- 8) Pressione o botão “Start” no instrumento para testes **ichroma™** para iniciar o processo de leitura.
(O **ichroma™ M2** iniciará o teste automaticamente após a inserção do cassete.)
- 9) O instrumento para testes **ichroma™** iniciará a leitura do cassete carregado com a amostra imediatamente.
- 10) Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes **ichroma™**.

Modo Único/ Modo Walk away

- 1) O procedimento do teste é o mesmo para ‘Modo Multi teste’ do item 1) ao item 5).
- 2) Insira o cassete no suporte para cassetes do instrumento para testes **ichroma™**. Verifique a posição adequada do cassete antes de inseri-lo completamente no suporte. Uma seta está marcada no cassete especialmente para este propósito.
- 3) Pressione o botão “Start” no instrumento para testes **ichroma™**.
(O **ichroma™ M2** iniciará o teste automaticamente após a inserção do cassete).
- 4) O cassete será carregado para o interior do instrumento para testes **ichroma™** e será automaticamente escaneado após 12 minutos.
- 5) Leia o resultado do teste na tela do instrumento para testes **ichroma™**.

► **ichroma™ III**

- 1) O procedimento de teste é o mesmo do ‘Modo de teste único’.

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*

► ichroma™ 50 Plus

- 1) Insira a ponteira da 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 cassete na estação para cassetes.
- 5) Insira o tubo com a amostra no rack para tubos de coleta de sangue e coloque-o 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) Selecione o número de ponteiras.
- 9) Selecione o tipo de amostra (sangue total ou soro/plasma) na tela.
- 10) Aperte o botão 'Start' na parte superior esquerda da tela principal para iniciar o teste.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes ichroma™ calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de PTH na amostra em termos de pg/mL.
- Cada laboratório deve investigar a transferibilidade dos valores esperados para sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar seu próprio intervalo de referência.
- Faixa de medição: 30 – 3.000 pg/mL
- Cut-off: 65 pg/mL

CONTROLE DE QUALIDADE

- 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.
- Os testes de controle de qualidade também devem ser realizados sempre que houver alguma dúvida em relação à validade dos resultados.
- Os materiais de controle são fornecidos sob demanda com o kit ichroma™ PTH. Para mais informações sobre a obtenção dos materiais de controle, entre em contato com a BioSys Ltda. (Por favor, consulte as instruções de uso do material de controle.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

■ Sensibilidade Analítica

- Limite do Branco (LoB) 5,29 pg/mL
- Limite de Detecção (LoD) 14,78 pg/mL
- Limite de Quantificação (LoQ) 29,88 pg/mL

■ Especificidade Analítica

- Reatividade cruzada

As biomoléculas listadas na tabela a seguir foram adicionadas as amostras teste em concentrações muito maiores que os níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados obtidos com o ichroma™ PTH não apresentaram reação cruzada significativa com essas biomoléculas, exceto o fragmento PTH (1-34).

Material de reatividade cruzada	Concentração (pg/mL)
Fragmento PTH (1-34)	12.000
Fragmento PTH (39-68)	100.000
Fragmento PTH (39-84)	100.000
Fragmento PTH (44-68)	100.000
Fragmento PTH (53-84)	100.000
Fragmento PTH (7-84)	300
B-CTX	10.000
Calcitonina	100.000
Osteocalcina	50.000
PTH RP (1-34)	100.000

* Observação: Anticorpos heterofílicos em amostras de pacientes podem causar interferência na detecção por reação cruzada com componentes de detecção do ensaio, incluindo estreptavidina. Essas interações podem levar a resultados falso-positivos.

- Interferência

Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados às amostras teste nas concentrações descritas abaixo. Os resultados obtidos com o ichroma™ PTH não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Material de interferência	Concentração
Hemoglobina	1000 mg/dL
Bilirrubina, não conjugada	0,7 mmol/L
Triglicerídeos	50 g/L
Ácido ascórbico	0,3 mmol/L
Glicose	1000 mg/dL
Colesterol	400 mg/dL

■ Precisão:

- Estudo unicêntrico

Repetibilidade (precisão na corrida)

Precisão no laboratório (precisão total)

Precisão lote a lote

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

PTH [pg/mL]	Estudo Unicêntrico			Precisão lote a lote	
	Média [pg/mL]	CV (%)	Média [pg/mL]	CV (%)	Média [pg/mL]
50	49,43	7,6	49,28	7,3	49,39
93	93,54	7,8	93,77	7,9	93,14
833	817,37	7,3	828,62	7,7	833,43

- Estudo multicêntrico

Reprodutibilidade

1 lote do ichroma™ PTH 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.

PTH [pg/mL]	Estudo Unicêntrico	
	Média [pg/mL]	CV (%)
50	49,23	7,8
93	91,88	7,9
833	829,02	7,5

■ Acurácia

A acurácia foi confirmada testando 3 lotes diferentes do ichroma™ PTH. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada concentração do controle padrão.

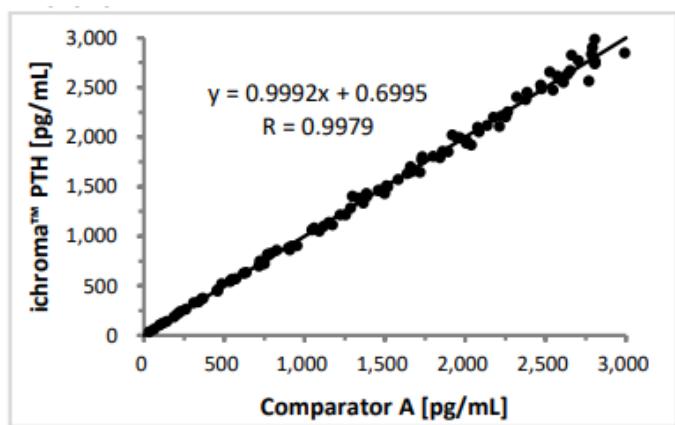
PTH [pg/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média [pg/mL]	Recuperação (%)
50,38	51,42	50,88	49,56	50,62	100
209,52	208,29	203,69	216,74	209,57	100
588,57	595,58	593,99	593,52	594,37	101
1157,14	1161,28	1160,67	1115,15	1145,70	99
1750,43	1738,43	1747,01	1766,06	1750,50	100
2341,67	2284,31	2290,19	2279,15	2284,55	98
2862,86	2908,83	2880,42	2862,62	2883,96	101

■ Comparabilidade

A concentração de PTH em 100 amostras clínicas foi independentemente analisada com o ichroma™ PTH (ichroma™ II) e com um teste comparativo (**Comparador A**), seguindo os respectivos procedimentos. Os resultados dos testes foram comparados e a comparabilidade foi investigada por regressão linear e pelo coeficiente de correlação (R). Os resultados estão apresentados a seguir.

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*



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

	Quantidade suficiente para <n> testes
	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>
	Límite de temperatura
	Não reutilizar
	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico <i>in vitro</i>

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 dos testes 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.

REFERENCIAS

1. Kakuta T, Ishida M, Fukagawa M. Critical Governance Issue of Parathyroid Hormone Assays and its Selection in the Management of Chronic Kidney Disease Mineral and Bone Disorders. Ther Apher Dial. 2018 Jun;22(3):220-228.
2. Lepage, R.; Roy, L.; Brossard, J.-H.; Rousseau, L.; Dorais, C.; Lazure, C.; D'Amour, P. A non-(1-84) circulating parathyroid hormone (PTH) fragment interferes significantly with intact PTH commercial assay measurements in uremic samples. Clinical Chemistry 1998, 44, 4, 805-809.
3. Jin, R.; Briggs, S.L.; Chandrasekhar, S.; Chirgadze, N.Y.; Clawson, D.K.; Schevitz, R.W.; Smiley, D.L.; Tashjian, A.H.; Zhang, F. Crystal Structure of Human Parathyroid Hormone 1-34 at 0.9-Å Resolution. The Journal of Biological Chemistry 2000, 275, 35, 27238-27244.
4. Shimizu, M.; Shimizu, N.; Tsang, J.C.; Petroni, B.D.; Khatri, A.; Potts Jr., J.T.; Gardella, T.J. Residue 19 of the Parathyroid Hormone (PTH) Modulates Ligand Interaction with the Juxtamembrane Region of the PTH-1 Receptor. Biochemistry 2002, 41, 13224-13233



Boditech Med Incorporated CE IVD

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,
Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398
Coreia do Sul
Tel: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

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: 10350840484

SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414

sac@biosys.com.br

www.biosys.com.br