



USO PRETENDIDO

**AFIAS Calprotectin** é um imunoensaio fluorescente (FIA) para determinação quantitativa de calprotectina (MRP8/14; S100A8/ S100A9) em fezes humanas. Este teste é útil como auxílio no gerenciamento e monitoramento do reflexo gastrointestinal inflamatório causado por diversas patologias (doença inflamatória intestinal, câncer colorretal e outras enteropatias). Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A calprotectina é uma proteína citoplasmática presente em neutrófilos, cuja concentração é aumentada nas fezes por doença inflamatória intestinal (DII), tais como a Doença de Crohn e a Colite Ulcerativa. A estabilidade da calprotectina à degradação a mantém estável nas fezes por até sete dias em temperatura ambiente, e por períodos muito maiores a -20°C. A calprotectina inibe os sistemas enzimáticos dependentes de zinco e, como resultado, mata os micróbios e induzem a apoptose em células normais e células cancerosas. Na presença de cálcio, a calprotectina é significativamente resistente a degradação proteolítica e, portanto, estável em fezes mantidas em temperatura ambiente por sete dias. A concentração fecal de calprotectina está correlacionada com os padrões histológicos e endoscópicos da inflamação intestinal em pacientes com DII.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção sanduíche. 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 serem capturados pela estreptavidina imobilizada na tira de teste. Quanto mais antígenos estiverem presentes na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo irão se formar, o que leva a um sinal de fluorescência mais forte pelos anticorpos detectores, que são processados pelo instrumento para testes AFIAS para mostrar a concentração de calprotectina na amostra.

COMPONENTES

- AFIAS Calprotectin** consiste em ‘cartuchos’ e tubos de ‘tampão de extração’.
- Cada invólucro de alumínio selado contém dois cartuchos.
  - Cada cartucho embalado em um invólucro de alumínio contém componentes, incluindo a parte do cartucho.
  - A parte do cartucho contém a membrana chamada tira de teste, que contém conjugado anti-calprotectina na linha de teste e IgG de coelho na linha controle.
  - O tampão de extração contém azida sódica em Tris como conservante. Ele está contido em tubos de tampão de extração. Esses tubos são embalados em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Somente para uso 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, tubo do tampão de extração 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 e nem os tubos de tampão de extração. Um cartucho deve ser utilizado para o teste de apenas uma amostra. Um tampão de extração 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 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, tubos de tampão de extração e ponteiros usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado conforme as normas locais.
- O tampão de extração 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.
- **AFIAS Calprotectin** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
  - **AFIAS Calprotectin** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.

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
Tampão de Extração	2-30°C	20 meses	Descartável

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

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS Calprotectin**:

- Caixa do cartucho:
  - Cartuchos 24
  - Tampão de Extração 24
  - Ponteiros (zipperbag) 24
  - Zipperbag sobressalente para cartucho 1
  - ID chip 1
  - Instruções de uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

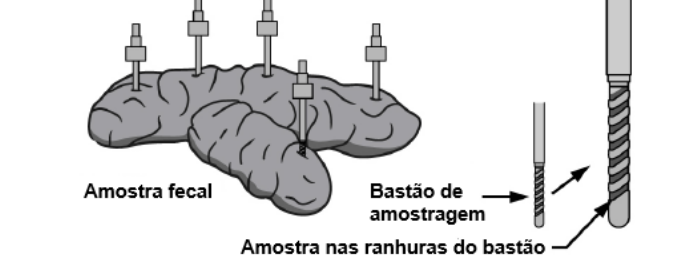
Os seguintes itens podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Calprotectin**:

- **Instrumento para testes AFIAS**
  - **AFIAS-1**
  - **AFIAS-3**
  - **AFIAS-6**
  - **AFIAS-10**
- **Boditech Calprotectin Control**
- **Boditech Calprotectin Calibrator**

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

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- O tipo de amostra para **AFIAS Calprotectin** é fezes humanas.
- Colete a amostra de fezes em um recipiente limpo e seco.
  - Inverta o tubo de tampão de extração e afrouxe a tampa onde está localizada o bastão de amostragem (cor amarela).
  - Toque a amostra fecal com o bastão de amostragem 5 ou 6 vezes em diferentes porções da amostra. Enquanto realiza a coleta, garanta a exclusão de grandes pedaços sólidos. (Caso a amostra esteja na forma líquida, ou ao utilizar um controle, transfira 10 µL da amostra/controle para o tubo de tampão de extração com o auxílio de uma pipeta.)



- Retorne o bastão para o tubo de extração da amostra. Aperte bem a tampa no tubo e balance-o vigorosamente cerca de 10 a 15 vezes, para dispersar a amostra no tampão de extração.
- O período de armazenamento das amostras (fezes) está relacionado abaixo:
  - A amostra de fezes em temperatura ambiente não apresenta diferenças em performance por até 4 horas.
  - As amostras de fezes armazenadas em refrigeração (2~8°C) não apresenta diferenças em performance por até 72 horas.
  - As amostras de fezes armazenadas em congelamento (-20°C) não apresenta diferenças em performance por até 8 semanas.
- O período de armazenamento das amostras misturadas no tubo de tampão de extração está relacionado abaixo:
  - A mistura de amostra em temperatura ambiente não apresenta diferenças em performance por até 7 dias.
  - A mistura de amostra em refrigeração (2~8°C) não apresenta diferenças em performance por até 10 dias.
- Contudo, é recomendado utilizar a mistura da amostra com o tampão de extração no mesmo dia após a amostragem.
- O período de armazenamento pode variar dependendo das condições e do tipo da amostra de fezes.
- Ciclos repetidos de congelamento e descongelamento podem afetar os resultados do teste, não congele novamente amostras já congeladas.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS Calprotectin** conforme

descrito a seguir: cartuchos, tampão de extração, ponteiros, um ID Chip, uma embalagem zipperbag para cartucho e instruções de uso.

- Assegure que o número do lote dos cartuchos equivale ao dos tubos de tampão de extração e 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.
- 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-1, AFIAS-3, AFIAS-6**  
**Modo Geral**
- 1) Colete e amostra com o bastão de amostragem e prepare-a de acordo com o método de coleta descrito em “Coleta e preparação das amostras”.
  - 2) Segure o tubo de cabeça para baixo e quebre a ponta preta na parte externa da tampa preta.
  - 3) Descarte 5 gotas da mistura com reagente em um papel toalha antes de aplicá-las no cartucho.
  - 4) Aplique 8 gotas da mistura da amostra no poço de amostra do cartucho.
  - 5) Selecione o ‘General Mode’ (Modo Geral) no instrumento para testes AFIAS.
  - 6) Insira o cartucho no suporte do instrumento.
  - 7) Insira a ponteira no orifício para ponteiros do cartucho.
  - 8) Aperte o botão ‘Start’ na tela.
  - 9) O resultado do teste será exibido na tela após 10 minutos.
- **AFIAS-10**  
Para o AFIAS-10, o AFIAS Calprotectin só pode ser utilizado no Modo de Emergência.  
**Modo de emergência – ponteira geral**
- 1) Colete e amostra com o bastão de amostragem e prepare-a de acordo com o método de coleta descrito em “Coleta e preparação das amostras”.
  - 2) Segure o tubo de cabeça para baixo e quebre a ponta preta na parte externa da tampa preta.
  - 3) Descarte 5 gotas da mistura com reagente em um papel toalha antes de aplicá-las no cartucho.
  - 4) Aplique 8 gotas da mistura da amostra no poço de amostra do cartucho.
  - 5) Insira o cartucho no suporte do instrumento.
  - 6) Insira a ponteira no orifício para ponteiros do cartucho.
  - 7) Toque no botão “carregar” da estação que segura o cartucho com a ponteira para leitura do código de barras do cartucho e confirme o nome do item escrito no cartucho.
  - 8) Converta para o ‘Emergency mode’ (Modo de Emergência) no AFIAS-10.
  - 9) Verifique o tipo de ponteira (ponteira geral) na tela.
  - 10) Verifique o tipo de amostra (fezes) na tela.
  - 11) Aperte o botão ‘Start’ na tela.
  - 12) O resultado do teste será exibido na tela após 10 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de calprotectina da amostra em termos de mg/kg.
  - Valor de referência:
- | Valor          | Interpretação                        |
|----------------|--------------------------------------|
| < 50 mg/kg     | Negativo                             |
| 50 - 100 mg/kg | Área limítrofe, é necessário repetir |

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*



o teste (em 4 a 6 semanas)	
> 100 mg/kg	Positivo

■ Faixa de trabalho: 10 - 1.000 mg/kg

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 Controle de Qualidade deverão também ser realizados quando houver dúvidas referentes à validade dos resultados dos testes.
- Os controles são fornecidos sob demanda com o kit **AFIAS Calprotectin**. 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) 2,82 mg/kg
  - LoD (Limite de Detecção) 4,59 mg/kg
  - LoQ (Limite de Quantificação) 10 mg/kg

■ Especificidade analítica

- Reatividade cruzada

As biomoléculas apresentadas na tabela abaixo foram adicionadas à amostra de teste em concentrações muito superiores aos seus níveis fisiológicos normais nas fezes. Os resultados dos testes de **AFIAS Calprotectin** não mostraram reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material de interferência	Concentração
<i>Helicobacter pylori</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,2 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL

- Interferência

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

Interferentes	Concentração
Hemoglobina humana	10 g/dL
Transferrina	400 mg/dL
Prednisolona	8,31 µmol/L
Ciprofloxacino	36,2 µmol/L
Ácido esteárico	0,4 mmol/L
Ácido palmítico	6 mmol/L
Metronidazol	719 µmol/L
Vancomicina	82,8 µmol/L
DMF	2%
DMSO	2%

■ Precisão

- Estudo unicêntrico

Repetibilidade (precisão na corrida)  
Precisão no laboratório (precisão total)  
Precisão lote a lote

3 lotes do **AFIAS Calprotectin** foram testados durante 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Cada material padrão foi testado em duplicata.

Estudo unicêntrico						
Calpro- tectina [mg/kg]	Repetibilidade		Precisão no laboratório		Precisão lote a lote	
	Média mg/kg	CV (%)	Média mg/kg	CV (%)	Média mg/kg	CV (%)
25	24,07	7,3	24,15	7,0	24,10	7,3

50	47,64	5,6	47,94	5,4	48,64	6,5
250	257,72	4,7	259,94	4,9	259,84	5,2

- Estudo multicêntrico

Reprodutibilidade

1 lote do **AFIAS Calprotectin** foi testado durante 5 dias em 3 locais diferentes (1 operador por local, 1 instrumento por local). Cada material padrão foi testado 1 vez em 5 replicatas por dia.

Estudo multicêntrico		
Calprotectina [mg/kg]	Reprodutibilidade	
	Média [mg/kg]	CV (%)
25	24,57	6,9
50	48,19	5,3
250	258,80	4,5

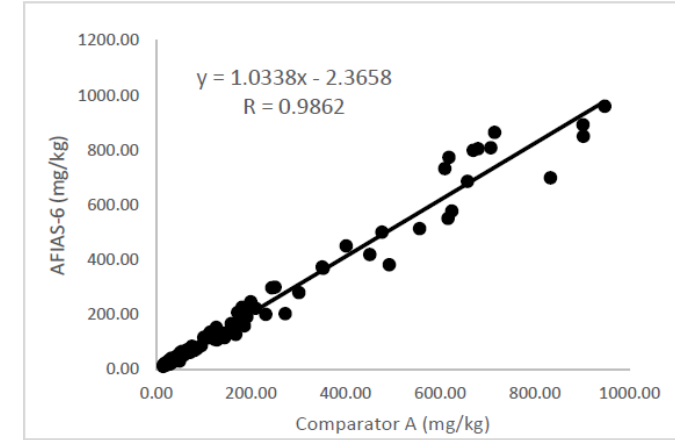
■ Acurácia

A acurácia foi confirmada com 3 lotes diferentes do **AFIAS Free Calprotectin**. Os testes foram repetidos 10 vezes com cada concentração do controle padrão.

Conc. [mg/kg]	lote 1	lote 2	lote 3	Média [mg/kg]	Recup. (%)
250,0	259,15	264,24	263,13	262,17	105
205,0	197,36	198,09	197,07	197,50	96
160,0	163,18	170,06	155,69	162,98	102
115,0	116,07	117,60	115,58	116,42	101
70,0	67,02	64,93	67,23	66,39	95
25,0	24,04	24,11	24,57	24,24	97

■ Comparabilidade

A concentração de calprotectina de 100 amostras clínicas foi independentemente quantificada com **AFIAS Calprotectin (AFIAS-6)** e com o **comparador A**, conforme os procedimentos estabelecidos para os testes. Os resultados dos testes foram comparados e a comparabilidade foi investigada por regressão linear e coeficiente de correlação (R). A regressão linear e o coeficiente de correlação estão especificados 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 da resolução sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

1. Buun SK et al., Fecal Calprotectin: Validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease, Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 2001; 33(1): 14-22.

2. Gaya D.R.m et al. Faecal calprotectin in the assessment of Crohn's disease activity. Q J Med 2005, Vol 98, May 2005, p. 435-441.
3. Quail, M.A. et al. Fecal Calprotectin Complements Routine Laboratory Investigations in Diagnosing Childhood Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis, Vol 15 No 5; May 2009, p. 756-759.
4. Angriman I. et. al. Enzymes in feces: Useful markers of chronic inflammatory bowel disease. Clinica Chimica Acta 381 Feb 2007, p. 63-68.
5. Henderson P, Anderson NH, Wilson DC. The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. Am J Gastroenterol 2014; 109:637- 645.
6. Walsham NE and Sherwood RA, Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease, Clinical and Experimental Gastroenterology, 2016; 9: 21-29.
7. Bjarnason I, The use of fecal calprotectin in inflammatory bowel disease, Gastroenterology & Hepatology, 2017; 13(1): 53-56.

**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
	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

**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: 10350840486**  
**SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414**  
**sac@biosys.com.br www.biosys.com.br**