



AFIAS

Free Anti-Ustekinumab

USO PRETENDIDO

O **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** é um imunoenensaio de fluorescência (FIA) para determinação quantitativa de anticorpos livres contra *ustequinumabe* em sangue total/soro humano.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

Doenças inflamatórias crônicas ou imunomediadas (DIMs) apresentam vias fisiopatológicas como predisposição genética, desregulação do equilíbrio imunológico e efeito de mediadores solúveis que resultam em inflamação. ^[1,2] A interleucina (IL) emergiu como um novo e importante contribuinte para diferentes DIMs, especialmente artrite reumatoide (AR), artrite psoriásica (AP) e doença de Crohn (DC). ^[3,4,5]

Ustekinumabe é um anticorpo monoclonal desenvolvido para o tratamento de doenças autoimunes e que tem como alvo a subunidade p40 comum à IL-12 e IL-23. Atualmente, está disponível para o tratamento da psoríase e em desenvolvimento para o tratamento da AP e da DC. ^[6,7,8]

Apenas cerca de metade dos pacientes com psoríase apresenta boas respostas clínicas com o medicamento biológico *ustequinumabe*, mas baixos níveis do fármaco podem resultar da formação de anticorpos anti-fármaco (ADAs). ^[9,10] Esses ADAs podem reduzir o nível do fármaco ativo, bloqueando diretamente a interação fármaco-antígeno e acelerando a eliminação do fármaco por meio da formação de imunocomplexos, prejudicando, conseqüentemente, a resposta clínica. ^[11]

O teste AFIAS Free Anti-Ustekinumab é utilizado para a detecção quantitativa de anticorpos livres contra o *ustequinumabe* no soro e no sangue total. Este teste pode fornecer informações relevantes sobre o tratamento terapêutico adequado.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um imunoenensaio de ponte para a detecção de anticorpos contra o *ustequinumabe*.

Os anticorpos anti-*ustequinumabe* da amostra são ligados ao *ustequinumabe* marcado com fluorescência e biotina, formando imunocomplexos, e migram para uma matriz de nitrocelulose para serem capturados pela estreptavidina imobilizada em uma tira de teste.

Uma maior quantidade de anticorpos contra o *ustequinumabe* na amostra resultará na formação de mais imunocomplexos, o que leva a um sinal de fluorescência mais forte, o qual é processado pelo instrumento para que os testes AFIAS mostrem a concentração de anti-*ustequinumabe* livre na amostra.

COMPONENTES

O kit **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** consiste em 'Cartuchos'.

- Cada bolsa de alumínio selada contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em uma bolsa de alumínio possui três componentes, incluindo uma parte de cassete, uma parte de detector e uma parte de diluente.
- A parte do cassete contém a membrana chamada tira de teste, que tem estreptavidina na linha de teste e IgY de galinha na linha de controle.
- A parte do detector possui 2 grânulos contendo conjugado fluorescente de *ustequinumabe*, conjugado fluorescente de anti-IgY de galinha, conjugado biotina-*ustequinumabe*, albumina de soro bovino (BSA) como estabilizante e azida de sódio como conservante em tampão Tris-HCl.
- A parte diluente contém tween 20 como detergente e azida sódica como conservante em solução salina tamponada com fosfato (PBS).

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Siga as instruções e procedimentos descritos nesta 'Instrução de Uso'.
- Utilize somente amostras frescas e evite a luz solar direta.
- Os números de lote de todos os componentes do teste (cartucho e chip de identificação) devem corresponder entre si.
- Não troque os componentes do teste entre lotes diferentes, nem os utilize após a data de validade, pois isso pode gerar resultados incorretos.
- Não reutilize cartuchos. Um cartucho deve ser usado para testar apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer lacrado em sua embalagem original até o momento do uso. Não utilize um cartucho se a embalagem estiver danificada ou já tiver sido aberta.
- 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 grave e/ou hiperlipemia não devem ser utilizadas.
- Se os componentes do teste e/ou a amostra forem armazenados em geladeira, deixe o cartucho e a amostra em temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.
- O instrumento para testes AFIAS pode gerar uma leve vibração durante o uso.
- Cartuchos, C-tips e ponteiras usados devem ser manuseados com cuidado e descartados por um método apropriado, de acordo com as normas locais relevantes.
- O cartucho contém azida sódica (NaN₃) e pode causar certos problemas de saúde, como convulsões, pressão arterial baixa, frequência cardíaca baixa, perda de consciência, lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Evite o contato com a pele, os olhos e as roupas. Em caso de contato, enxágue imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência da biotina no **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** quando a concentração de biotina na amostra estava abaixo de 500 ng/mL. Se um paciente estiver tomando biotina em uma dosagem superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção do uso de biotina.
- O **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** fornecerá resultados

precisos e confiáveis, sujeitos às condições abaixo.

- O **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** deve ser usado apenas em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.

- É necessário usar o anticoagulante recomendado.

Anticoagulantes recomendados

K₂ EDTA, Na₂ EDTA, Citrato de sódio

- **C-tip deve ser usada quando as seguintes condições forem atendidas.**

- Recomenda-se a utilização de C-tip fornecida com o kit para obter o resultado correto do teste.

- O sangue total deve ser testado imediatamente após a coleta.

- Não realize o teste com a C-tip no Modo Geral. Isso pode causar um resultado incorreto.

- O excesso de sangue total ao redor da C-tip deve ser limpo.

- Para evitar contaminação cruzada, não reutilize C-tip para múltiplas amostras.

- O cartucho AFIAS deve ser inserido e posicionado no suporte do cartucho antes da coleta da amostra de sangue.

- Ao coletar sangue, tome cuidado para não criar bolhas de ar na C-tip.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode gerar resultado(s) falso-positivo(s) devido a reações cruzadas e/ou adesão inespecífica de certos componentes da amostra aos anticorpos de captura/detectores.
- O teste pode gerar resultados falso-negativos devido à falta de resposta do fármaco aos anticorpos, o que é mais comum quando o epítipo está mascarado por alguns componentes desconhecidos, impossibilitando sua detecção ou captura pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação dos fármacos com o tempo e/ou temperatura também pode causar resultados falso-negativos, tornando-os irreconhecíveis pelos anticorpos.
- Outros fatores podem interferir no teste e causar resultados errôneos, como erros técnicos/de procedimento, degradação dos componentes/reagentes do teste ou presença de substâncias interferentes nas amostras de teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser apoiado pela ampla avaliação do médico responsável, em conjunto com os sintomas clínicos e outros resultados de testes 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 Free Anti-Ustekinumab**:

Caixa do cartucho:

- Cartucho 24
- Ponteira (zipperbag) 24

- C-tip (30 µL) 24
- ID Chip 1
- Zipperbag sobressalente 1
- Instruções de Uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Free Anti-Ustekinumab**.

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

- **Instrumento para testes AFIAS**
- **AFIAS-1**
- **AFIAS-3**
- **AFIAS-6**
- **AFIAS-10**
- **Boditech Free Anti-Ustekinumab Control**
- **Boditech Free Anti-Ustekinumab Calibrator**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra utilizado com o kit **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** é sangue total/soro humano.

- É recomendado testar a amostra dentro de 24 horas após a coleta quando a amostra coletada for armazenada à temperatura ambiente.
- O soro deve ser separado do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- O soro pode ser armazenado por uma semana a 2-8°C antes da realização do teste. Se um período maior que 1 semana de armazenamento for necessário, o soro deve ser congelado a -20°C.
- As amostras congeladas a -20°C por 3 meses não apresentaram diferença de desempenho.
- Entretanto, a amostra de sangue total não deve ser mantida no congelador em hipótese alguma.
- Uma vez que repetidos ciclos de congelamento e descongelamento podem afetar os resultados do teste, não congele novamente amostras previamente descongeladas.
- Coleta de amostra de sangue total usando C-tip:
 - ① Segure a C-tip horizontalmente e toque a superfície do sangue com a ponta da C-tip.
 - ② A capilaridade puxará automaticamente a amostra de sangue para a C-tip e parará.
 - ③ Limpe qualquer excesso de sangue ao redor da ponta.
 - ④ Verifique novamente se o sangue total está preenchido corretamente na C-tip e se o instrumento para testes AFIAS está pronto para um teste no "modo C-tip".

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS Free Anti-Ustekinumab**: cartuchos, ponteiras, C-tips, ID chip, zipperbag para cartucho sobressalente e Instrução de Uso.
- 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 para ponteiras do cartucho.
- 3) Selecione o 'Modo Geral' no instrumento para testes AFIAS.
- 4) Transfira 100 µL da amostra (sangue total/soro/controle) com auxílio de uma pipeta para o poço de amostras do cartucho.
- 5) Pressione o botão 'Start' na tela.
- 6) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo C-tip

- 1) Insira o cartucho no suporte para cartuchos.
- 2) Transfira 30 µL do sangue total usando uma C-tip.
- 3) Insira a C-tip preenchida com sangue no orifício para ponteiras do cartucho.
- 4) Selecione o 'Modo C-tip' no instrumento para testes AFIAS.
- 5) Pressione o botão '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 baía 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) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 12 minutos.

Modo Emergência - General tip

- 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 (general tip) na tela.
- 4) Selecione o tipo de amostra (sangue total/soro) na tela.
- 5) Transfira 100 µL 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 para cartuchos.
- 2) Transfira 30 µL do sangue total usando uma C-tip.
- 3) Insira a C-tip preenchida com sangue no orifício para ponteiras do cartucho.
- 4) Aperte o botão 'Load' na baía que contém o cartucho com a ponteira para ler o código de barras do cartucho e confirme o nome do item escrito no cartucho.
- 5) Converta para o 'Modo Emergência' no AFIAS-10.
- 6) Selecione o tipo de ponteira (C-tip) na tela.
- 7) Aperte o botão 'Start' na tela.
- 8) O resultado do teste 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 anti-ustequinumabe livre na amostra teste em termos de ng/mL.
- Faixa de medição: 2,5 - 100 ng/mL.

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade (CQ) 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 a validade dos resultados.
- Os materiais de controle são fornecidos mediante solicitação com o **AFIAS Free Anti-Ustekinumab**. Para obter mais informações sobre a obtenção dos controles, entre em contato com a **BioSys Ltda.** (Consulte as instruções de uso do material de controle.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- **Sensibilidade Analítica**
 - Limite do Branco (LoB) 0,58 ng/mL
 - Limite de Detecção (LoD) 1,17 ng/mL
 - Limite de Quantificação (LoQ) 2,50 ng/mL

- **Efeito Hook**
Não há efeito Hook em concentrações de anti-ustequinumabe até 2.000 ng/mL.

- **Especificidade Analítica**
 - Reatividade cruzada
Os resultados do teste **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** não mostraram nenhuma reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material de reatividade cruzada	Concentração
Imunoglobulina G	10 mg/mL
Imunoglobulina M	10 mg/mL
Infliximabe	100 µg/mL
Adalimumabe	100 µg/mL
Etanercepte	100 µg/mL
Golimumabe	100 µg/mL
Anti-infliximabe	1.000 ng/mL
Anti-adalimumabe	1.000 ng/mL
Anti-etanercepte	1.000 ng/mL
Anti-golimumabe	1.000 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 Free Anti-Ustekinumab** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
Hemoglobina	1000 mg/dL
Bilirrubina	40 mg/dL
Triglicerídeos	1500 mg/dL
Fator reumatoide	200 UI/mL
Albumina sérica humana	6 g/dL

■ **Precisão**

- **Estudo unicêntrico**

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

3 lotes do **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi testado em duplicata.

Anti-Ustekinumabe Livre [ng/mL]	Repetibilidade		Precisão no laboratório		Precisão lote a lote	
	Média [ng/mL]	CV (%)	Média [ng/mL]	CV (%)	Média [ng/mL]	CV (%)
5	5,09	5,9	5,01	6,0	4,98	5,7
20	20,09	5,6	20,02	5,7	20,04	5,6
50	50,32	5,2	50,80	5,8	50,27	5,7

- **Estudo multicêntrico**

Reprodutibilidade

1 lote do **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** 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.

Anti-Ustekinumabe Livre [ng/mL]	Estudo multicêntrico	
	Média [ng/mL]	CV (%)
5	4,98	6,2
20	20,11	5,5
50	50,48	6,0

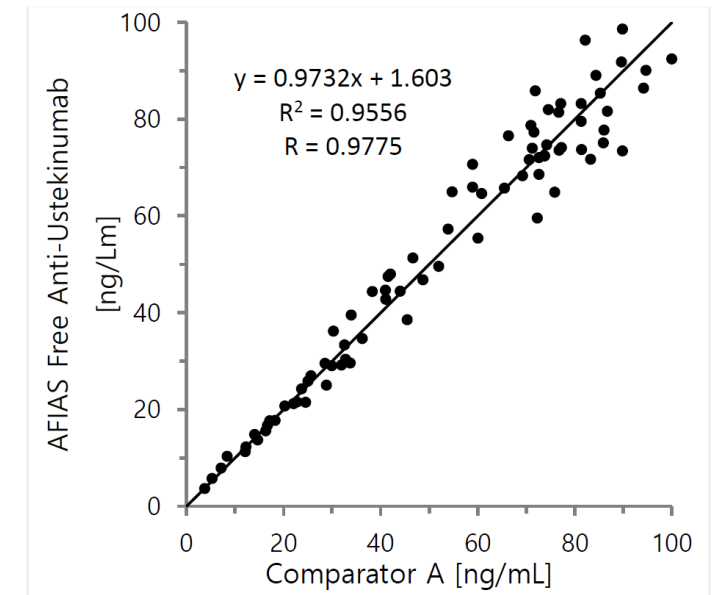
■ **Acurácia**

A acurácia foi confirmada testando 3 lotes diferentes do **AFIAS Free Anti-Ustekinumab**. Os testes foram repetidos 10 vezes em cada concentração do controle padrão.

Anti-Ustekinumabe Livre [ng/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média [ng/mL]	Recuperação (%)
3,48	3,44	3,51	3,36	3,44	98,9
12,25	12,33	12,24	12,33	12,30	100,4
22,00	21,32	22,20	22,31	21,94	99,7
41,50	41,60	40,72	40,87	41,06	98,9
61,00	61,94	61,36	60,97	61,42	100,7
90,25	94,00	90,27	90,96	91,74	101,7

■ **Comparabilidade**

As concentrações de anti-ustequinumabe livre de 80 amostras clínicas foram quantificadas de modo independente com o **AFIAS Free Anti-Ustekinumab (AFIAS-6)** e com o **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.



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. Shurin, M. R. & Smolkin, Y. S. Immune-mediated diseases: where do we stand? Adv. Exp. Med. Biol. 601, 3–12 (2007).
2. Blandizzi, C., Gionchetti, P., Armuzzi, A., Caporali, R., Chimenti, S., Cimaz, R. et al. The role of tumour necrosis factor in the pathogenesis of immune-mediated diseases. Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 27 (suppl. 1), 1–10 (2014).
3. Torfs, C. P., King, M. C., Huey, B., Malmgren, J. & Grumet, F. C. Genetic interrelationship between insulin-dependent diabetes mellitus, the autoimmune thyroid diseases, and rheumatoid arthritis. Am. J. Hum. Genet. 38, 170–187 (1986).
4. Lin, J. P., Cash, J. M., Doyle, S. Z., Peden, S., Kanik, K., Amos, C. I. et al. Familial clustering of rheumatoid arthritis with other autoimmune diseases. Hum. Genet. 103, 475–482 (1998).
5. Hemminki, K., Li, X., Sundquist, K. & Sundquist, J. Shared familial aggregation of susceptibility to autoimmune diseases. Arthritis Rheum. 60, 2845–2847 (2009).
6. Toussiot E. The IL-23/Th17 pathway as a therapeutic target in chronic inflammatory diseases. Inflamm Allergy Drugs Targets. 2012;11(2):159–168.
7. Elliott M, Benson J, Blank M, et al. Ustekinumab: lessons learned from targeting interleukin-12/23p40 in immune-mediated diseases. Ann N Y Acad Sci. 2009;1182:97–110.
8. Cingoz O. Ustekinumab. MAbs. 2009;1(3):216–221.
9. C.L. Leonardi, A.B. Kimball, K.A. Papp, N. Yeilding, C. Guzzo, Y. Wang et al. Lancet, 371 (2008), pp. 1665-1674
10. K.A. Papp, R.G. Langley, M. Lebowl, G.G. Krueger, P. Szapary,

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*

N. Yeilding *et al.* Lancet, 371 (2008), pp. 1675-1684
11.C.L. Leonardi, A.B. Kimball, K.A. Papp, N. Yeilding, C. Guzzo,
Y. Wang *et al.* Lancet, 371 (2008), pp. 1665-1674

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
	Esse produto cumpre com os requerimentos da Diretiva 98/79/EC acerca dos 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: 10350840497
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br www.biosys.com.br