



AFIAS

Free Anti-Ustekinumab

USO PRETENDIDO

O **AFIAS Free Anti-Ustekinumab** é um imunoensaio 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]

Ustequinumabe 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, consequentemente, 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 imunoensaio 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
K ₂ EDTA, Na ₂ 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 anticorpo anti-fármaco, 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 do anticorpo anti-fármaco com o tempo e/ou temperatura também pode causar resultados falso-negativos, tornando-o irreconhecível 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 Anti-Ustekinumab Control**
- **Boditech 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**

Instruções de Uso

Para uso em diagnóstico *in vitro*



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 baia 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 baia 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.

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

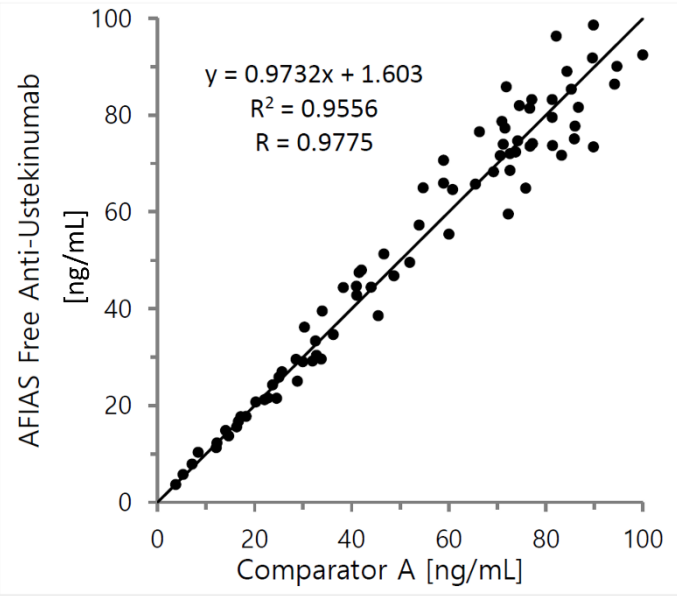
■ Acurácia

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

- Shurin, M. R. & Smolkin, Y. S. Immune-mediated diseases: where do we stand? Adv. Exp. Med. Biol. 601, 3–12 (2007).
- 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).
- 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).
- 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).
- Hemminki, K., Li, X., Sundquist, K. & Sundquist, J. Shared familial aggregation of susceptibility to autoimmune diseases. Arthritis Rheum. 60, 2845–2847 (2009).
- Toussiot E. The IL-23/Th17 pathway as a therapeutic target in chronic inflammatory diseases. Inflamm Allergy Drugs Targets. 2012;11(2):159–168.
- 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.
- Cingoz O. Ustekinumab. MAbs. 2009;1(3):216–221.
- C.L. Leonardi, A.B. Kimball, K.A. Papp, N. Yeilding, C. Guzzo, Y. Wang *et al.* Lancet, 371 (2008), pp. 1665-1674
- K.A. Papp, R.G. Langley, M. Lebwohl, 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