



ichroma™ Anti-CCP Plus

USO PRETENDIDO

ichroma Anti-CCP Plus é um imunoenensaio fluorescente (FIA) para determinação qualitativa ou semiquantitativa de autoanticorpos IgG humanos contra o peptídeo citrulinado cíclico (CCP) em amostras de sangue total/soro/plasma humano. É utilizado como auxílio ao diagnóstico da Artrite Reumatoide em combinação com outros achados clínicos e laboratoriais.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

A Artrite Reumatoide é uma doença autoimune comum e sistêmica que afeta entre 0,5 e 1,0% da população mundial. A Artrite Reumatoide é caracterizada pela inflamação crônica da membrana sinovial podendo levar à destruição progressiva das articulações, impotência e morte ⁽¹⁾. Como o dano articular é irreversível, a intervenção terapêutica precoce é de suma importância no prognóstico dos pacientes ^(2,3).

O diagnóstico de doenças reumatológicas inclui o histórico médico, os achados clínicos (incluindo técnicas de imagem) e testes sorológicos laboratoriais. Os testes de diagnóstico sorológico são importantes na detecção precoce e diferenciação da Artrite Reumatoide. O teste sorológico mais frequente é o da medição do fator reumatoide (FR) ⁽⁴⁾. O anticorpo contra RF está presente em cerca de 75% dos pacientes com Artrite Reumatoide, mas a especificidade é limitada, já que o FR também está presente em indivíduos saudáveis e em pacientes com outras doenças reumáticas ou inflamatórias, doenças autoimunes ou infecções crônicas ⁽⁵⁾.

Mais recentemente, novos autoanticorpos específicos aos antígenos proteicos citrulinados (ACPAs) tiveram uma contribuição crucial no diagnóstico da artrite reumatoide ⁽⁶⁾. Embora muitos ensaios estejam disponíveis para a detecção dos ACPAs para antígenos específicos, para a condução clínica da artrite reumatoide, a maioria dos testes utiliza uma proteína citrulinada cíclica (CCP) sintética como antígeno para a detecção dos ACPAs. O ensaio anti-CCP é capaz de detectar os autoanticorpos contra proteínas citrulinadas que apresentam alta sensibilidade relativa (entre 50% e 75%) à artrite reumatoide e tem alta especificidade (cerca de 90%) para a artrite reumatoide ⁽⁷⁾. Por conta dessa alta especificidade, o teste anti-CCP se tornou parte importante no processo de diagnóstico.

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodetecção tipo sanduíche: os antígenos presentes no detector se ligam aos anticorpos presentes na amostra formando complexos antígeno-anticorpo, e migram para a matriz de nitrocelulose onde são capturados pela estreptavidina imobilizada na linha teste.

Quanto mais anticorpo estiver presente na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo são formados, levando a uma maior intensidade do sinal da fluorescência no antígeno detector, que é processado pelo leitor para testes ichroma que exibe a concentração de anti-CCP na amostra.

COMPONENTES

O kit **ichroma Anti-CCP Plus** consiste em 'Cassetes', 'Tubos Detectores', 'Diluyente do Detector', 'Tubos Capilares', 'ID Chip' e 'Instrução de Uso'.

- O cassete contém uma tira teste, a membrana que contém estreptavidina na linha teste e IgY de galinha na linha controle.
- Cada cassete é individualmente selado em um invólucro de folha de alumínio contendo um dessecante, e todos os cassetes são embalados numa caixa.
- O tubo detector contém um grânulo, o qual contém conjugado fluorescente anti-IgG humano, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha, conjugado CCP-biotina, albumina de soro bovino (BSA) em tampão fosfato salina como estabilizante. Todos os tubos detectores estão em uma embalagem.
- O diluyente do detector contém azida sódica em tampão fosfato salina como conservante, e é previamente dispensado em um frasco. O diluyente do detector está embalado em uma caixa.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Uso somente em diagnóstico *in vitro*.
- Seguir cuidadosamente as instruções e procedimentos descritos neste folheto informativo.
- Usar somente amostras frescas e evitar exposição direta à luz do sol.
- Os números dos lotes de todos os componentes do teste (cassete, ID chip, detector e diluyente) devem ser correspondentes.
- Não misturar materiais de diferentes lotes do produto ou usar o produto após a data de validade, em qualquer um dos casos poderá oferecer resultados incorretos.
- Não reutilizar os cassetes ou o detector. O detector deve ser usado para o processamento de apenas uma amostra. O cassete deve ser utilizado para o teste 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 transportá-las, as amostras devem ser embaladas de acordo com as normas locais. Amostras com hemólise severa e/ou hiperlipidêmicas não devem ser utilizadas.
- **O CASSETE, OS TUBOS DO TAMPÃO DE EXTRAÇÃO E A AMOSTRA DEVEM ESTAR À TEMPERATURA AMBIENTE POR APROXIMADAMENTE 30 MINUTOS ANTES DE SUA UTILIZAÇÃO.**
- O kit **ichroma Anti-CCP Plus** e o leitor ichroma deverão ser usados longe de vibração e/ou campos magnéticos. Durante o uso normal, poderá ser notado que o equipamento ichroma poderá emitir vibrações menores.
- Os tubos do detector, o frasco do diluyente, as ponteiras, os tubos capilares e os cassetes devem ser manuseados cuidadosamente e descartados de uma forma apropriada conforme as normas locais.
- Uma exposição a grandes quantidades de azida sódica pode causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e da frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e falha respiratória.
- O kit **ichroma Anti-CCP Plus** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:
 - O kit **ichroma Anti-CCP Plus** deve ser usado somente em conjunto com os instrumentos para teste ichroma™.
 - Anticoagulantes recomendados:

Anticoagulantes Recomendados

Na₂ EDTA, K₂ EDTA, Citrato de Sódio

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Condição de Armazenagem			
Componente	Temperatura	Validade	Nota
Cassete	4-30°C	Até a data de validade do rótulo	Fechado
Tubo Detector	2-8°C	Até a data de validade do rótulo	Fechado
Diluyente do Detector	2-8°C	Até a data de validade do rótulo	Fechado
	2-8°C	Até a data de validade do rótulo	Aberto

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

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 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 suportado pela avaliação de um médico, incluindo sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **ichroma Anti-CCP Plus**

- Caixa do Cassete:
 - Cassetes 25 unidades
 - Tubo Capilar (5 µL) 25 unidades
 - ID Chip 1 unidade
 - Instrução de uso 1 unidade
- Caixa do Tampão:
 - Tubo Detector 25 unidades
 - Diluyente do Detector 1 unidade

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **ichroma Anti-CCP Plus**.

Por favor, contate nossos representantes para maiores informações.

- Equipamento para testes **ichroma**:
 - **ichroma II (MS: 10350840297)**
 - **i-Chamber (MS: 10350840301)**
 - **Boditech Anti-CCP Plus Control (MS: 10350840380)**

COLETA E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

O tipo de amostra utilizado com o kit **ichroma Anti-CCP Plus** é sangue total/soro/plasma humano.

- É recomendado testar as amostras dentro de 24 horas após a coleta.
- O soro ou o plasma devem ser separados do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.

- As amostras de soro e plasma podem ser armazenadas por até um mês a 2-8°C até que o teste seja realizado. Se um período maior que um mês for necessário até a realização do teste, as amostras deverão ser congeladas a -2°C.
- O congelamento das amostras por até 3 meses não afeta a qualidade dos resultados.
- Contudo, amostras de sangue total não poderão ser mantidas congeladas em nenhuma hipótese.
- Uma vez que a amostra for congelada, esta poderá ser descongelada apenas uma vez, pois o descongelamento repetido da amostra pode resultar em mudanças nos resultados do teste.
- A amostra de sangue de ponta do dedo deve ser coletada conforme a seguir:
 - Posicione a mão com a palma virada para cima. O sangue deve ser coletado normalmente do dedo médio ou dedo anelar da mão não dominante. Aplique pressão intermitente em direção à ponta do dedo.
 - Limpe a ponta do dedo com um algodão e álcool.
 - Deixe o dedo secar completamente, pois o sangue não formará uma gota caso o local da punção esteja úmido e porque o álcool residual na ponta do dedo poderá diluir o sangue total e afetar o resultado do teste.
 - Segure o dedo e perfure na ponta pressionando firmemente uma lanceta estéril nova contra a pele em uma posição descentralizada.
 - Despreze a primeira gota do sangue utilizando uma gaze ou um algodão.
 - Massageie o dedo em direção à sua ponta para formar uma nova gota de sangue. O sangue fluirá facilmente se o dedo estiver abaixo do cotovelo.
 - Segure o tubo capilar e toque a sua abertura na gota de sangue.
 - Deixe o sangue preencher o tubo capilar completamente.
 - As vezes pode ser necessário massagear o dedo novamente para formar uma gota adicional de sangue para o preenchimento completo do tubo capilar.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **ichroma Anti-CCP Plus**: Cassetes selados, Tubos Detectores, Diluyente do Detector, Tubos Capilares, ID Chip e Instrução de Uso.
- Certifique-se que o número do lote dos cassetes equivale ao do ID Chip, assim como ao da caixa do tampão.
- Mantenha o cassete selado (se armazenado na geladeira) e o tampão de extração à **temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes da realização do teste**. Coloque o cassete sobre uma superfície limpa, isenta de poeira e plana.
- Ligue o leitor **ichroma**.
(Favor consultar o Manual de Operações do leitor **ichroma** para obter informação completa e instruções de operação.)

ATENÇÃO

- Para minimizar resultados incorretos, é recomendado que a temperatura de incubação do cassete seja de 25°C durante o tempo de reação após o carregamento da mistura da amostra no cassete.
- Para manter a temperatura de 25°C, pode ser utilizado o dispositivo **i-Chamber** ou uma incubadora.

PROCEDIMENTO DO TESTE

- 1) Transfira 150 µL do diluente do detector utilizando uma pipeta para o tubo contendo o detector.
- 2) Transfira 5 µL da amostra (sangue total / soro / plasma humano) para o tubo detector.
*Se for utilizar tubo capilar (5 µL), coloque-o dentro do tubo detector após a coleta da amostra de sangue total.
- 3) Feche a tampa do tubo detector e misture a amostra vigorosamente agitando por cerca de 20 vezes.
- 4) Pipete 75 µL da mistura da amostra e dispense-a no poço de amostra do cassete.
- 5) Insira e mantenha o cassete carregado com a mistura da amostra no i-Chamber ou na incubadora (25°C) por 12 minutos.
- 6) Para escanear o cassete com a amostra carregada, insira o cassete no suporte do equipamento ichroma. Confirme a posição adequada do cassete de teste antes de empurrá-lo todo para dentro do suporte. Uma seta foi marcada no cassete especialmente para este fim.



Escaneie o cassete carregado com a amostra imediatamente após o tempo de incubação terminar. Caso contrário, isso causará resultados de teste inexatos.

- 7) Pressione o botão "Start" no equipamento para testes ichroma para iniciar o processo de digitalização.
- 8) O instrumento começará a escanear o cassete imediatamente.
- 9) Leia o resultado na tela do instrumento ichroma.
(Veja o Manual de Operação do equipamento ichroma para obter informações completas e instruções de operação).

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes ichroma calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de anti-CCP e a situação da amostra teste.

Resultado do Teste [U/mL]	Valor Exibido [U/mL]
< 5,0	< 3,5 ou valor, (Neg)
5,0 ≤, < 300	Valor, (Pos)

- Cut-off: 5,0 U/mL
- Faixa de trabalho: 3,5 - 300,0 U/mL

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade 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 deverão ser realizados imediatamente antes de usar um novo lote do teste para garantir que o desempenho do teste não foi alterado.
- Os testes de controle de qualidade devem ser realizados sempre que houver qualquer dúvida em relação a validade dos resultados dos testes.
- Os controles não são fornecidos com o kit **ichroma Anti-CCP Plus**. Para mais informações sobre a obtenção do controle, entre em contato com a **BioSys Ltda.**
(Por favor, consulte as instruções de uso do kit do controle.)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- **Sensibilidade Analítica**
Limite do Branco (LoB) 2,32 U/mL
Limite de Detecção (LoD) 3,49 U/mL
- **Especificidade Analítica**
- Reatividade Cruzada
As biomoléculas descritas na tabela abaixo foram adicionadas às amostras teste em concentrações mais altas do que os níveis fisiológicos presentes no sangue. Os resultados com o kit **ichroma**

Anti-CCP Plus não apresentaram reatividade cruzada significativa com essas biomoléculas.

Material de Reatividade Cruzada
Anti-SSA
Anti-SSB
Anti-Sm
Anti-RNP
Anti-dsDNA
Anti-Jo-1
Anti-Scl70
Anti-Ribo-P
Anticorpo Antinuclear (ANA).

- Interferência

Não houve interferência dos materiais nas concentrações apresentadas na tabela abaixo com as medições do teste **ichroma Anti-CCP Plus**.

Material de Interferência	Concentração
Hemoglobina	500 mg/dL
Bilirrubina	0,2 mg/mL
Triglicerídeos	2.000 mg/dL
Fator Reumatoide	78 IU/mL
Albumina de Soro Humano	12 g/dL

■ Precisão:

- Entre lote

Uma pessoa testou 3 lotes diferentes do **ichroma Anti-CCP Plus**, dez vezes em cada concentração do controle padrão.

- Entre pessoas

Três pessoas testaram o **ichroma Anti-CCP Plus**, dez vezes em cada concentração do controle padrão.

- Entre dias

Uma pessoa testou **ichroma Anti-CCP Plus** durante cinco dias, cinco vezes em cada concentração do controle padrão.

- Entre locais

Uma pessoa testou o **ichroma Anti-CCP Plus** em três locais diferentes, cinco vezes em cada concentração do controle padrão.

Anti-CCP [U/mL]	Entre lotes		Entre pessoas		Entre dias		Entre locais	
	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)	Média	CV(%)
6,25	6,22	5,0	6,21	5,9	6,25	6,6	6,13	5,2
30,00	29,61	5,7	30,39	5,3	29,98	5,7	29,50	6,2
100,00	99,42	6,6	99,27	6,5	100,64	5,6	98,55	6,9

■ Exatidão

A exatidão foi confirmada testando 3 lotes diferentes, 6 vezes em cada soro humano.

Anti-CCP [U/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	CV (%)	Bias (%)
4,15	3,83	3,86	3,87	3,86	2,5	-7,1
5,31	5,05	4,88	4,91	4,95	3,3	-6,9
16,66	15,21	15,32	15,17	15,23	1,8	-8,6
19,79	18,53	18,07	18,38	18,33	4,0	-7,4
67,02	67,16	67,67	66,55	67,13	2,2	0,2

■ Comparabilidade

Total (N = 216)	N	ichroma Anti-CCP Plus	
		Positivo	Negativo
Axis-shield	Pos. 116	109	7
FCCP600	Neg. 100	4	96
Concordância Positiva (≥ 5 U/mL) (%)		93,9	
Concordância Negativa (< 5 U/mL) (%)		96,0	
Total (%)		94,9	

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 em vigor sobre o regulamento técnico para gerenciamento de resíduos de serviços de saúde, bem como outras práticas de biossegurança equivalentes.

REFERÊNCIAS

1. Birch JT Jr, Bhattacharya S. Emerging trends in diagnosis and treatment of rheumatoid arthritis. *Prim Care*. 2010;37:779–92.
2. Landewe RB. The benefits of early treatment in rheumatoid arthritis: confounding by indication, and the issue of timing. *Arthritis Rheum* 2003;48(1):1-5.
3. Lard LR, Visser H, Speyer I, et al. Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis: comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med* 2001;111:446-51.
4. Mageed RA. The RF antigen. In *Manual of Biological Markers of Disease* Edited by van Venrooij WJ & Maini RN Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1996. pp. 1–27.
5. van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002;4:87–93
6. Systematic review: accuracy of anti-citrullinated Peptide antibodies for diagnosing rheumatoid arthritis. Whiting PF, Smidt N, Sterne JA, Harbord R, Burton A, Burke M, Beynon R, Ben-Shlomo Y, Axford J, Dieppe P *Ann Intern Med*. 2010 Apr 6; 152(7):456-64; W155-66.
7. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, van Venrooij WJ *Arthritis Rheum*. 2000 Jan; 43(1):155-63.

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

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Limites 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 Incorporated
 43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon,
 Chuncheon-si, Gang-won-do
 Republic of Korea
 Tel: +(82) -33-243-1400
 Fax: +(82) -33-243-9373
 www.boditech.co.kr

Fabricado por: Boditech Med Incorporated
Importado e Distribuído por: BioSys Ltda
Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ
Cep: 24020-112
CNPJ: 02.220.795/0001-79
MS – nº 10350840380
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br