



# 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 <sup>(1)</sup>. Como o dano articular é irreversível, a intervenção terapêutica precoce é de suma importância no prognóstico dos pacientes <sup>(2,3)</sup>.

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) <sup>(4)</sup>. 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 <sup>(5)</sup>.

Mais recentemente, novos autoanticorpos específicos aos antígenos proteicos citrulinados (ACPAs) tiveram uma contribuição crucial no diagnóstico da artrite reumatoide <sup>(6)</sup>. 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 <sup>(7)</sup>. Por conta dessa alta especificidade, o teste anti-CCP se tornou parte importante no processo de diagnóstico.

## PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção 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

Na<sub>2</sub> EDTA, K<sub>2</sub> 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
<b>Concordância Positiva (≥ 5 U/mL) (%)</b>		93,9	
<b>Concordância Negativa (&lt; 5 U/mL) (%)</b>		96,0	
<b>Total (%)</b>		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**