



AFIAS Total Anti-Infliximab

USO PRETENDIDO

AFIAS Total Anti-Infliximab é um imunoenensaio de fluorescência (FIA) para a determinação semiquantitativa de anticorpos livres e ligados contra infliximabe em soro/plasma humano.

Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

Anticorpos monoclonais são agora amplamente aceitos como o agente bioterapêutico para tratar várias doenças.^[1] O medicamento infliximabe, um anticorpo monoclonal quimérico, é comercializado há vários anos nos Estados Unidos e na Europa para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como doença inflamatória intestinal, artrite reumatoide, espondilite anquilosante, psoríase, etc.^[2, 3] Uma principal preocupação, apesar de seu amplo uso, é o potencial desenvolvimento de anticorpos para infliximabe (ATI).^[4,5] Além disso, o ATI interfere na eficácia do infliximabe e um número significativo de pacientes perde a resposta à medicação.^[6] Finalmente, isso pode enganar a terapia alterando o tratamento.^[7, 8]

AFIAS Total Anti-Infliximab é usado para uma detecção semiquantitativa de anticorpos para infliximabe (ATI) que pode quantificar a forma livre e ligada. Este método fornece uma determinação precisa e confiável do anticorpo anti-infliximabe, mesmo na presença de alta concentração de infliximabe. Portanto, é um método ideal para monitoramento de drogas terapêuticas. Este ensaio é útil para o médico monitorar com precisão e otimizar a estratégia terapêutica apropriada.

PRINCÍPIO

O teste **AFIAS Total Anti-Infliximab** usa um imunoenensaio de ponte para detecção de anticorpos para infliximabe. A amostra é preparada pela dissociação e os anticorpos anti-infliximabe da amostra são ligados com infliximabe fluorescente e marcado com biotina, o que resulta na formação de um complexo imunológico. Este imunocomplexo migra através da matriz de nitrocelulose e é capturado pela estreptavidina imobilizada na tira-teste.

Quanto mais anticorpo para infliximabe (ATI) na amostra mais imunocomplexo se forma levando a uma maior intensidade do sinal de fluorescência que é processado pelo instrumento para testes AFIAS para mostrar a concentração de anti-infliximabe (semiquantitativo).

COMPONENTES

AFIAS Total Anti-Infliximab consiste em cartuchos.

- Cada bolsa de alumínio selada contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em uma bolsa de alumínio possui quatro componentes, incluindo uma parte do cartucho, uma parte do detector, uma parte do tampão líquido e uma parte do tampão seco.

- A parte do cartucho contém a membrana chamada tira de teste que contém estreptavidina na linha de teste e IgY de galinha na linha de controle.
- A parte do detector contém conjugado de fluorescência de infliximabe, conjugado de fluorescência anti-IgY galinha, conjugado infliximabe-biotina, IgG de camundongo, sacarose, albumina de soro bovino, álcool polivinílico, polietilenoglicol e azul de bromofenol em tampão tris-cloridrato.
- A parte do tampão líquido contém tampão glicina com azida sódica como conservante.
- A parte do tampão seco contém tampão tris-cloridrato contendo L-arginina, cloreto de magnésio, tween 20 e Pluronic F-68.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Somente para uso em diagnóstico in vitro.
- Siga as instruções e procedimentos descritos nestas 'Instruções de uso'.
- Use apenas amostras frescas e evite a luz solar direta.
- Os números de lote de todos os componentes de teste (cartucho e chip de identificação) devem ser correspondentes.
- Não misturar materiais de diferentes lotes ou usar os componentes de teste após a data de validade, pois qualquer um deles pode produzir resultados de teste incorretos.
- Não reutilize cartuchos. Um cartucho deve ser usado para testar apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer lacrado em sua embalagem original até pouco antes do uso. Não use um cartucho se a embalagem estiver danificada ou já tiver sido aberta.
- A amostra congelada deve ser descongelada apenas uma vez. Para envio, as amostras devem ser embaladas de acordo com os regulamentos locais. Amostras com hemólise grave e/ou hiperlipidemia não devem ser utilizadas.
- Se os componentes do teste e/ou a amostra forem armazenados na 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 e ponteiros de pipetas usados devem ser manuseados com cuidado e descartados por um método apropriado de acordo com os regulamentos locais relevantes.
- O cartucho contém azida de sódio (NaN₃) e pode causar certos problemas de saúde, como convulsões, pressão arterial e frequência cardíaca baixas, perda de consciência, lesão pulmonar e insuficiência respiratória. Evite contato com a pele, olhos e roupas. Em caso de contato, enxague imediatamente com água corrente.
- Nenhuma interferência de biotina foi observada no AFIAS Total Anti-Infliximab quando a concentração de biotina na amostra estiver abaixo de 100 ng/mL. Se um paciente estiver tomando biotina em dosagem superior a 0,03 mg por dia, recomenda-se testar novamente 24 horas após a interrupção da ingestão de biotina.
- **AFIAS Total Anti-Infliximab** fornecerá resultados precisos e

confiáveis se sujeito às condições abaixo:

- **AFIAS Total Anti-Infliximab** deve ser usado apenas em conjunto com o equipamento AFIAS.
- Deve ser usado com os anticoagulantes recomendados

Anticoagulantes recomendados

K₂ EDTA, Na₂ EDTA, Citrato de Sódio

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode produzir resultados falsos positivos devido a reações cruzadas e/ou adesão não específica de certos componentes da amostra aos anticorpos de captura/detector.
- O teste pode produzir resultados falsos negativos devido à não responsividade do anticorpo antidroga, que é o mais comum se o epítipo for mascarado por alguns componentes desconhecidos, portanto, não podendo ser detectado ou capturado pelos anticorpos. A instabilidade ou degradação do anticorpo antidroga com o tempo e/ou temperatura também pode causar resultado falso negativo, pois torna a droga 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 teste.
- Qualquer diagnóstico clínico baseado no resultado do teste deve ser apoiado por uma avaliação abrangente do médico em conjunto com os sintomas clínicos e outros achados relevantes.

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

Componente	Condição de armazenamento		
	Temperatura de Armazenamento	Validade	Nota
Cartucho	2 - 30 °C	20 meses	Fechado
		1 mês	Aberto

- Devolva o cartucho não utilizado à embalagem zipperbag para cartucho sobressalente que contém um agente dessecante e feche novamente a embalagem até o uso.

MATERIAIS FORNECIDOS

Componentes do kit **AFIAS Total Anti-Infliximab**

- A caixa do kit contém
 - Cartuchos 24
 - Ponteiros (zipperbag) 24
 - Embalagem zipperbag para cartucho 1
 - ID chip 1
 - Instrução de Uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens a seguir podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS Total Anti-Infliximab**.

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

- **Equipamentos AFIAS**
 - **AFIAS-1**
 - **AFIAS-3**
 - **AFIAS-6**
 - **AFIAS-10**
- **Boditech Total Anti-Infliximab Control**

COLETA E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

- Os tipos de amostras utilizadas com **AFIAS Total Anti-Infliximab** é soro/plasma humano.
- Recomenda-se testar a amostra armazenada a temperatura ambiente (15-30°C) em até 24 horas após a coleta.
- As amostras (soro e plasma) devem ser separadas do coágulo por centrifugação em até 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (soro e plasma) podem ser armazenadas por uma semana a 2-8°C antes de serem testadas. Se o teste demorar mais de uma semana, o soro deve ser congelado a -20 °C.
- As amostras (soro e plasma) congeladas a -20 °C por 1 mês não apresentaram diferença de desempenho.
- O congelamento e descongelamento sucessivos da amostra de soro pode afetar o resultado do teste. Uma vez que a amostra for descongelada, não congele novamente.

CONFIGURAÇÕES DO TESTE

- Verifique os componentes do **AFIAS Total Anti-Infliximab** conforme descrito abaixo.: Cartuchos, ponteiros, ID Chip, Zipperbag sobressalente e instruções de uso.
- Certifique-se de que o número de lote do cartucho corresponda ao do ID Chip.
- Se o cartucho selado tiver sido armazenado em geladeira, coloque-o em uma superfície limpa e plana em temperatura ambiente por pelo menos 30 minutos antes do teste.
- Ligue o equipamento **AFIAS**.
- Esvazie a caixa de ponteiros.
- Insira o ID Chip na 'porta do ID Chip.'
- ※ **Favor consultar o Manual de Operações dos equipamentos AFIAS para obter informação completa e instruções de operação.**

PROCEDIMENTO DO TESTE

► **AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6**

Modo geral

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- 3) Selecione 'General mode' no equipamento.
- 4) Pipete 100 µL de amostra (soro, plasma, controle) e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- 5) Selecione o botão 'START' na tela.
- 6) O resultado do teste será exibido na tela após 22 minutos.

► **AFIAS-10**

Modo normal

- 1) Insira o cartucho no suporte do equipamento.
- 2) Insira a ponteira no orifício para ponteiros no cartucho.
- 3) Selecione o botão 'Carregar' para ler o Código de barras do cartucho e confirme o nome escrito no cartucho.
- 4) Insira o tubo de amostra no rack de tubos.
- 5) Insira o rack de tubos na parte de carregamento da estação de amostras.
- 6) Selecione o botão 'START' na tela.
- 7) O resultado do teste será exibido na tela após 22 minutos.

Modo de Emergência – Modo Geral

- O procedimento do teste é o mesmo do “Modo Normal, de 1 a 3”.
- Passe para o ‘Modo de Emergência’ no AFIAS-10.
- Selecione o tipo de ponteira (general tip) na tela.
- Selecione o tipo de amostra (soro/plasma) na tela.
- Pipete 100 µL de amostra e coloque-a no poço de amostra no cartucho.
- Selecione o botão 'START' na tela.
- O resultado do teste será exibido na tela após 22 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de anti-infliximabe da amostra de teste em termos de AU/mL.

Faixa de trabalho: 8-250 AU/mL

- Cut-off: 10 AU/mL

Faixa	Interpretação
≥ 10 AU/mL	Positivo
< 10 AU/ml	Negativo

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de Controle de qualidade (CQ) fazem 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 qualquer dúvida sobre a validade dos resultados dos testes.
- Os controles não são fornecidos com o kit **AFIAS Total Anti-Infliximab**. Para maiores informações sobre a obtenção do controle, entre em contato com a BioSys. (Por favor, consulte as instruções de uso do kit de controle).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- Sensibilidade analítica**
Limite do Branco (LoB) 1.25 AU/mL
Limite de Detecção (LoD) 7.99 AU/mL
- Efeito pró-zona de alta dose**
Não há efeito pró-zona de alta dose na concentração de anti-infliximabe até 3.000 AU/mL.
- Especificidade Analítica**
- Reatividade cruzada
Os resultados do teste **AFIAS Total Anti-Infliximab** não mostraram reatividade cruzada significativa com as seguintes biomoléculas:

Substâncias de Reação Cruzada	Concentração
Adalimumabe	100 µg/mL
Etanercept	100 µg/mL
Golimumabe	100 µg/mL
Anticorpo Anti-adalimumabe	1000 ng/mL
Anticorpo Anti-etanercept	1000 ng/mL
Anticorpo Anti-golimumabe	1000 ng/mL

- Interferências

Os interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados à amostra de teste nas concentrações mencionadas abaixo. Os resultados do teste **AFIAS Total Anti-Infliximab** não mostraram interferência significativa

com esses materiais.

Interferente	Concentração
Hemoglobina	500 mg/dL
Bilirrubina	20 mg/dL
Triglicerídeo	2,000 mg/dL
Fator Reumatóide	200 IU/mL
Albumina sérica humana	12 g/dL

Precisão

- Estudo unicêntrico

Repetibilidade (precisão dentro da corrida)

Precisão dentro do laboratório (precisão total)

Precisão de lote a lote

3 Lotes de **AFIAS Total Anti-Infliximab** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi testado em duplicatas.

- Estudo multicêntrico

Reprodutibilidade

1 Lote de **AFIAS Total Anti-Infliximab** foi testado durante 5 dias em 3 locais diferentes (1 pessoa por local, 1 instrumento por local). Cada material padrão foi testado 1 vez por operador em 5 replicatas por dia.

Conc. [AU/mL]	Repetibilidade		Precisão total	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)
12	12.91	5.7	12.90	5.4
50	50.46	2.2	50.02	2.6
100	100.86	3.1	101.50	3.5

Conc. [AU/mL]	Precisão lote a lote		Reprodutibilidade	
	Média	CV (%)	Média	CV (%)
12	12.93	5.4	11.88	5.6
50	49.94	3.2	50.09	5.8
100	100.94	3.5	99.65	5.6

Exatidão

A precisão foi confirmada por testes com 3 lotes diferentes de **AFIAS Total Anti-Infliximab**. Os testes foram repetidos 10 vezes com cada concentração do padrão controle.

Conc. [AU/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média	Recuperação (%)
35.8	36.09	36.34	36.99	36.47	107.3
59.6	58.11	58.83	57.26	58.06	100.1
107.2	106.47	104.46	106.12	105.68	99.7
154.8	149.40	152.63	154.32	152.12	98.8
202.4	199.62	209.52	207.30	205.48	101.7
226.2	233.28	233.15	233.86	233.43	103.3

Avaliação do Desempenho Clínico

AFIAS Total Anti-Infliximab demonstrou os seguintes resultados de desempenho clínico.

Total (n=104)	n	AFIAS Total Anti-Infliximab	
		Positivo	Negativo
Comparador A	Positivo	25	23
	Negativo	79	77
Concordância Positiva (≥ 10 AU/mL)		92.0 %	
Concordância Negativa (< 10 AU/mL)		97.5 %	
Concordância Total		96.1 %	

REFERÊNCIAS

- “Rutgeerts P, Sandborn WJ, Feagan BG, et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med* (2005) 353:2462–2476.
- Infliximab, Infliximab-dyyb Monograph for Professionals”.

Drugs.com. American Society of Health-System Pharmacists. Retrieved 15 July 2019.

- “Tumor necrosis factor inhibitors – state of knowledge.” *Arch Med Sci* (2014) 10(6): 1175–1185
- Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, et al. Maintenance infliximab for Crohn’s disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002; 359:1541–1549
- Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Long-Fox A, Charles P, Bijl H, et al. Repeated therapy with monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) in patients with rheumatoid arthritis. *Lancet* (1994) 344:1125–7
- Afif W, Loftus EV, Jr., Faubion WA, Kane SV, Bruining DH, Hanson KA, Sandborn WJ. Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric antibody concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* (2010) 105(5): 1133-1139
- Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn’s disease. *N Engl J Med* (2010) 362(15):1383–1395.
- Peake ST, Bernardo D, Mann ER, Al-Hassi HO, Knight SC, Hart AL. Mechanisms of action of anti-tumor necrosis factor α agents in Crohn’s disease. *Inflamm Bowel Dis.* (2013) 19:1546–1555.

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

	Suficiente para <n> testes
	Consulte as instruções de uso
	Validade
	Lote
	Catálogo
	Cuidado, consulte documentos anexos
	Fabricante
	Representante autorizado da Comunidade Europeia
	Diagnóstico in vitro
	Limites de temperatura
	Não reutilizar
	Este produto cumpre as exigências da Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos para diagnóstico in vitro

Boditech Med Incorporated

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

