



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

1. “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.
2. Infliximab, Infliximab-dyyb Monograph for Professionals”.

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

3. “Tumor necrosis factor inhibitors – state of knowledge.” *Arch Med Sci* (2014) 10(6): 1175–1185
4. Hanauer SB, Feagan BG, Lichtenstein GR, et al. Maintenance infliximab for Crohn’s disease: the ACCENT I randomised trial. *Lancet* 2002; 359:1541–1549
5. 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
6. 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
7. 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.
8. 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

