



USO PRETENDIDO

O **AFIAS PTH** é um imunoenensaio fluorescente (FIA) automatizado para determinação quantitativa do nível de PTH (Hormônio Paratireoidiano) em sangue total/soro/plasma humano. Este teste é útil no auxílio ao diagnóstico diferencial de hiperparatireoidismo ou hipoparatireoidismo.

Uso somente em diagnóstico *in vitro*.

INTRODUÇÃO

O hormônio paratireoidiano é um hormônio polipeptídico de cadeia única, com 84 aminoácidos e, aproximadamente, 9,5 kDa de peso molecular, que é secretado pelas células principais da glândula Paratireóide. Consiste em um importante regulador da remodelação óssea, além de participar na resposta homeostática às alterações nas concentrações de cálcio plasmático.^[1]

O PTH é biosintetizado como um hormônio pré-pro-PTH, uma molécula comprida com 115 aminoácidos. Após duas etapas de clivagem proteolítica intracelular, a glândula paratireóide secreta a forma final ativa contendo 84 aminoácidos pépticos, também chamada de forma intacta. O PTH intacto é biologicamente ativo e é excretado da circulação rapidamente, devido à sua meia vida ter menos de quatro minutos.

Em indivíduos saudáveis, a regulação da secreção do hormônio paratireoidiano normalmente ocorre através de uma ação de feedback negativo do cálcio sérico nas glândulas paratireóides. Os ensaios de PTH intacto são importantes para a diferenciação de hiperparatireoidismo primário de outras causas de hipercalcemia (não mediadas pela paratireóide), tal como malignidades, sarcoidose e tireotoxicose. A medição do hormônio paratireoidiano corresponde à forma mais específica de diagnosticar o hiperparatireoidismo primário. Na presença de hipercalcemia, níveis elevados de hormônio paratireoidiano caracterizam, virtualmente, o diagnóstico. A elevação do hormônio paratireoidiano é observada em mais de 90% dos pacientes com hiperparatireoidismo. Uma outra causa bem comum de hipercalcemia, chamada de hipercalcemia de malignidade, é associada a níveis suprimidos de hormônio paratireoidiano ou níveis de PTH dentro do intervalo de normalidade.^[2, 3, 4]

PRINCÍPIO

O teste utiliza um método de imunodeteção de sanduíche com fluorescência de Európio.

Os anticorpos de detecção do tampão ligam-se aos antígenos na amostra, formando complexos antígeno-anticorpo. Eles migram para a matriz de nitrocelulose para serem capturados pela estreptavidina imobilizada na tira de teste.

Quanto mais antígeno na amostra, mais complexos antígeno-anticorpo serão formados, o que leva a um sinal de fluorescência mais forte pelos anticorpos de detecção, que é processado pelo

instrumento para testes AFIAS para exibir a concentração de PTH na amostra.

COMPONENTES

O kit **AFIAS PTH** consiste em 'Cartuchos'.

- Cada invólucro de alumínio selado contém dois cartuchos.
- Cada cartucho embalado em um invólucro de alumínio possui três componentes, incluindo uma parte do cassete, uma parte do detector e uma parte do diluente.
- A parte do cassete contém uma membrana chamada de tira teste, que possui estreptavidina nas duas linhas teste, e IgY de galinha na linha controle.
- A parte do detector possui um grânulo contendo conjugado fluorescente anti-PTH humano, conjugado anti-PTH-biotina humano, conjugado fluorescente anti-IgY de galinha e azida sódica como conservante em tampão fosfato-salino (PBS).
- A parte do diluente contém Tergitol e tween 20 como detergentes e azida sódica como conservante em tampão HEPES.

ALERTAS E PRECAUÇÕES

- Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Siga as instruções e procedimentos descritos nesta 'Instrução de Uso'.
- Use somente amostras frescas e evite exposição direta a luz solar.
- O número de lote de todos os componentes do teste (cartucho e ID chip) devem ser correspondentes.
- Não misture componentes do teste de diferentes lotes ou use os componentes do teste após a data de validade, pois em qualquer um dos casos poderá ocorrer resultados incorretos.
- Não reutilize os cartuchos. Um cartucho deve ser utilizado para o processamento de apenas uma amostra.
- O cartucho deve permanecer selado em seu invólucro original até antes do uso. Não use o cartucho caso o invólucro esteja danificado ou aberto.
- 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 e/ou hiperlipemia severas não devem ser utilizadas.
- Caso os componentes do teste e/ou a amostra estejam armazenados em refrigeração, **permita que o cartucho e a amostra permaneçam a temperatura ambiente por aproximadamente 30 minutos antes do uso.**
- Os instrumentos para testes AFIAS podem vibrar levemente durante o uso.
- Os cartuchos e ponteiras usados devem ser manuseados cuidadosamente e descartados por um método apropriado conforme as normas locais relevantes.
- O cartucho contém azida sódica (NaN₃), que pode causar sérios problemas de saúde como convulsões, diminuição da pressão sanguínea e frequência cardíaca, perda de consciência, dano pulmonar e insuficiência respiratória. Evite o contato com pele, olhos e roupas. Em caso de contato, lave a área imediatamente com água corrente.
- Não foi observada interferência por biotina com **AFIAS PTH** quando a concentração de biotina na amostra foi abaixo de 100 ng/mL. Se o paciente estiver tomado biotina em uma dose superior a 0,03 mg/dia, recomenda-se que o teste seja

realizado 24 horas após a descontinuação da administração da biotina

- O kit **AFIAS PTH** irá fornecer resultados precisos e confiáveis se sujeitos às seguintes condições:

- **AFIAS PTH** deve ser usado somente em conjunto com o instrumento para testes AFIAS.

- Deve ser usado somente com os anticoagulantes recomendados.

Anticoagulantes recomendados

K₂ EDTA, Heparina sódica, Heparina lítica

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- O teste pode apresentar resultado(s) 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(s) falso-negativo devido à não responsividade do antígeno aos anticorpos, o que 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 respaldado pela avaliação de um médico, em conjunto de sintomas clínicos e outros resultados relevantes.

ARMAZENAGEM E ESTABILIDADE

Componente	Temperatura	Condições de armazenagem	
		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 PTH**:

- Caixa do cartucho:
 - Cartuchos 24
 - Ponteiras 24
 - Zipperbag sobressalente 1
 - ID chip 1
 - Instrução de uso 1

MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Os itens seguintes podem ser adquiridos separadamente do kit **AFIAS PTH**.

- **Instrumento para testes AFIAS**
 - **AFIAS-1**
 - **AFIAS-3**
 - **AFIAS-6**
 - **AFIAS-10**
- **Boditech PTH Calibrator**

- **Boditech PTH Control**

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

COLETA E PROCESSAMENTO DE AMOSTRA

O tipo de amostra para **AFIAS PTH** é sangue total/soro/plasma humano.

- É recomendado testar as amostras (sangue total, soro, plasma) dentro de 6 horas após a coleta quando forem armazenadas em temperatura ambiente.
- As amostras (soro, plasma) devem ser separadas do coágulo por centrifugação dentro de 3 horas após a coleta do sangue total.
- As amostras (sangue total, soro, plasma) podem ser armazenadas por 1 dia a 2-8°C antes da realização do teste. Se um período maior que 1 dia de armazenamento for necessário, as amostras (soro, plasma) devem ser congeladas a -20°C.
- As amostras (soro, plasma) congeladas a -20°C por 3 meses não apresentam diferença de desempenho.
- Entretanto, amostras de sangue total não devem ser congeladas em nenhuma hipótese.
- Uma vez que repetidos ciclos de congelamento e descongelamento podem afetar os resultados do teste, não congele novamente amostras previamente congeladas.

CONFIGURAÇÃO DO TESTE

- Verifique os componentes do kit **AFIAS PTH**: Cartuchos, ponteiras, um ID chip, um zipperbag para cartucho sobressalente e uma instrução de uso.
- Assegure que o número de lote do cartucho é correspondente ao número de lote do ID chip.
- 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 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 de ponteiras no cartucho.
- 3) Selecione o 'Modo Geral' no instrumento para testes AFIAS.
- 4) Transfira 150 µL da amostra (sangue total/soro/plasma/controlado) 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 17 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 baía 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 17 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/plasma) na tela.
- 5) Transfira 150 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 17 minutos.

INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

- O instrumento para testes AFIAS calcula o resultado do teste automaticamente e exibe a concentração de PTH da amostra teste em termos de pg/mL.
- Cada laboratório deve investigar a aplicabilidade dos valores esperados à sua população de pacientes e, se necessário, determinar seu próprio intervalo de referência.
- Faixa de medição: 30 - 3.000 pg/mL
- Cut-off: 65 pg/mL

CONTROLE DE QUALIDADE

- Testes de controle de qualidade são parte das boas práticas laboratoriais para confirmar os resultados esperados e a validade do ensaio e devem ser realizados em intervalos regulares.
- O controle de qualidade também deve ser realizado sempre que houver alguma dúvida em relação à validade dos resultados.
- Os materiais de controle não são fornecidos com o kit **AFIAS PTH**. Para mais informações sobre a obtenção dos controles, entre em contato com a **BioSys Ltda.** (Favor consultar as instruções de uso do material controle).

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

- **Sensibilidade Analítica**
 - Limite do Branco (LoB) 6,37 pg/mL
 - Limite de Detecção (LoD) 16,46 pg/mL
 - Limite de Quantificação (LoQ) 29,17 pg/mL
- **Especificidade Analítica**
 - **Reatividade cruzada**
Biomoléculas como as listadas na tabela a seguir foram adicionadas às amostras teste em concentrações muito maiores que os níveis fisiológicos normais no sangue. Os resultados de teste obtidos com o **AFIAS PTH** não mostraram reatividade cruzada significativa com as essas biomoléculas, com exceção do fragmento de PTH (1-34).

Material de reatividade cruzada	Concentração
Fragmento de PTH (1-34)	12.000 pg/mL

Fragmento de PTH (39-68)	100.000 pg/mL
Fragmento de PTH (39-84)	100.000 pg/mL
Fragmento de PTH (44-68)	100.000 pg/mL
Fragmento de PTH (53-84)	100.000 pg/mL
Fragmento de PTH (7-84)	300 pg/mL
Interligadores C Terminais	10.000 pg/mL
Calcitonina	100.000 pg/mL
Osteocalcitonina	50.000 pg/mL
Proteína relacionada ao PTH (1-34)	100.000 pg/mL

Nota: Anticorpos heterofílicos nas amostras do paciente podem causar interferência na detecção por reação cruzada com os componentes de detecção do teste, inclusive com a estreptavidina. Essas interações podem levar a resultados falso-positivos.

Interferência

Os materiais interferentes listados na tabela a seguir foram adicionados às amostras teste nas concentrações descritas abaixo. Os resultados obtidos com o **AFIAS PTH** não apresentaram interferência significativa com esses materiais.

Interferentes	Concentração
Hemoglobina	1.000 mg/dL
Bilirrubina não conjugada	0,7 mmol/L
Triglicerídeos	50 g/L
Ácido ascórbico	0,3 mmol/L
Glicose	1.000 mg/dL
Colesterol	400 mg/dL

Precisão**Estudo unicêntrico**Repetibilidade (Precisão na corrida)Precisão no laboratório (Precisão total)Precisão lote a lote

3 lotes do **AFIAS PTH** foram testados por 20 dias. Cada material padrão foi testado 2 vezes por dia. Para cada teste, cada material foi testado em duplicata.

PTH [pg/mL]	Estudo unicêntrico					
	Repetibilidade		Precisão no laboratório		Precisão lote a lote	
	Média [pg/mL]	CV (%)	Média [pg/mL]	CV (%)	Média [pg/mL]	CV (%)
50	49,40	7,6	50,10	7,8	49,84	8,4
93	92,38	7,1	92,76	7,5	92,54	8,1
833	828,54	8,2	835,14	8,4	836,68	8,5

Estudo multicêntricoReprodutibilidade

1 lote do **AFIAS PTH** 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.

PTH [pg/mL]	Estudo multicêntrico	
	Reprodutibilidade	
	Média [pg/mL]	CV (%)
50	50,89	8,6
93	92,89	8,6
833	847,35	8,5

Acurácia

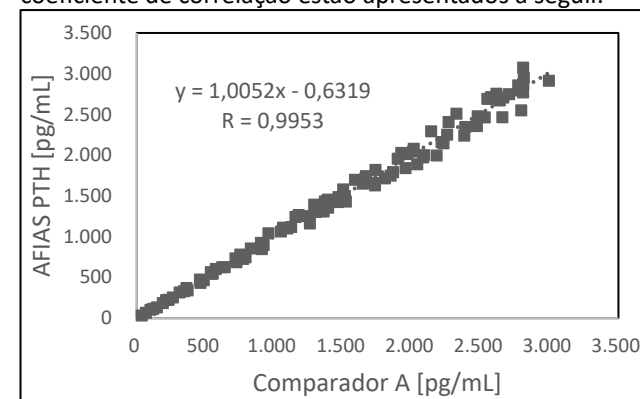
A acurácia foi confirmada testando 3 lotes diferentes do **AFIAS PTH** por 5 dias. Os testes foram repetidos 10 vezes em

cada concentração do controle padrão.

PTH [pg/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média [pg/mL]	Recuperação
50,38	51,19	51,00	49,11	50,43	100%
209,52	203,75	212,07	206,16	207,33	99%
588,57	585,44	585,21	555,92	575,53	98%
1157,14	1119,98	1154,50	1154,21	1142,90	99%
1750,43	1667,36	1737,08	1712,20	1705,55	97%
2341,67	2466,64	2341,71	2394,48	2400,95	103%
2862,86	2808,85	2736,38	2676,26	2740,50	96%

Comparabilidade

A concentração de PTH de 100 amostras clínicas foi quantificada independentemente com **AFIAS PTH (AFIAS-6)** e um **Comparador A**, conforme indicado nos procedimentos de teste. Os resultados dos testes foram comparados e sua comparabilidade foi 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

1. Kakuta T, Ishida M, Fukagawa M. Critical Governance Issue of Parathyroid Hormone Assays and its Selection in the Management of Chronic Kidney Disease Mineral and Bone Disorders. *Ther Apher Dial*. 2018 Jun;22(3):220-228.
2. Lepage, R.; Roy, L.; Brossard, J.-H.; Rousseau, L.; Dorais, C.; Lazure, C.; D'Amour, P. A non-(1-84) circulating parathyroid hormone (PTH) fragment interferes significantly with intact PTH commercial assay measurements in uremic samples. *Clinical Chemistry* 1998, 44, 4, 805-809.
3. Jin, R.; Briggs, S.L.; Chandrasekhar, S.; Chirgadze, N.Y.; Clawson, D.K.; Schevitz, R.W.; Smiley, D.L.; Tashjian, A.H.; Zhang, F. Crystal Structure of Human Parathyroid Hormone 1-34 at 0.9-Å Resolution. *The Journal of Biological Chemistry* 2000, 275, 35, 27238-27244.

4. Shimizu, M.; Shimizu, N.; Tsang, J.C.; Petroni, B.D.; Khatri, A.; Potts Jr., J.T.; Gardella, T.J. Residue 19 of the Parathyroid Hormone (PTH) Modulates Ligand Interaction with the Juxtamembrane Region of the PTH-1 Receptor. *Biochemistry* 2002, 41, 13224-13233.

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

	Quantidade suficiente para <n> ensaios
	Consultar as instruções de uso
	Validade
	Código do lote
	Número do 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 para Dispositivos Médicos de 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

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 10350840458
SAC: +55 21 3907-2534 / 0800 015 1414
sac@biosys.com.br
www.biosys.com.br