



USO PREVISTO

AFIAS Etanercept es un fluoroinmunoanálisis (FIA) para la determinación cuantitativa del etanercept libre en sangre total, suero o plasma humanos.
Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

El etanercept es una proteína de fusión recombinante compuesta por un fragmento de unión al receptor del factor de necrosis tumoral α (TNF- α), que se utiliza para tratar o controlar diversas enfermedades inflamatorias crónicas, como la artritis reumatoide (AR), la artritis idiopática juvenil (AIJ) y la artritis psoriásica (APs), la psoriasis en placas y la espondilitis anquilosante (EA), al actuar como inhibidor del TNF- α (TNFi).^[1]

En la práctica clínica, la individualización de la dosis mediante el mantenimiento de la concentración sanguínea del fármaco dentro de un intervalo objetivo es útil para ofrecer eficacia clínica, sin dar lugar a toxicidad inaceptable, y rentabilidad.^[2,3]

En los ensayos clínicos se ha demostrado que una concentración reducida de fármaco circulante se asocia a la ausencia de respuesta clínica al tratamiento anti-TNF.^[4,5] Además, hubo estudios en los que se notificó una correlación significativa de las concentraciones séricas de etanercept con la actividad de la enfermedad y los parámetros clínicos.^[6,7]

AFIAS Etanercept está previsto para la determinación cuantitativa de la concentración del etanercept en plasma, suero y sangre total.

AFIAS Etanercept utiliza un par de anticuerpos monoclonales altamente específicos, que muestran un rendimiento cuantitativo igual al del etanercept (Enbrel®) y los biosimilares del etanercept como SB4, LBEC0101 y CT-P05.

AFIAS Etanercept está calibrado con respecto al estándar internacional de la OMS (código NIBSC: 13/204) para el etanercept.

PRINCIPIO

Esta prueba utiliza un método de inmunodetección de tipo *sandwich*.

Los anticuerpos antietanercept marcados con fluorescencia y biotina en el tampón se unen al etanercept de la muestra para formar complejos fármaco-anticuerpo, los cuales migran a través de la matriz de nitrocelulosa y son capturados por la estreptavidina inmovilizada en la tira reactiva.

Cuanto más etanercept haya en la muestra, más complejos fármaco-anticuerpo se formarán, lo que dará lugar a una señal de fluorescencia más intensa que será procesada por el instrumento para pruebas AFIAS para mostrar la concentración de etanercept en la muestra.

COMPONENTES

- AFIAS Etanercept** se compone de cartuchos.
 - Cada bolsa de aluminio sellada contiene dos cartuchos.

- Cada cartucho envasado en una bolsa de aluminio tiene tres componentes: la parte de soporte, la parte de detección y el diluyente.
- La parte de soporte contiene la membrana denominada tira reactiva, que tiene estreptavidina en la línea de prueba e IgY de pollo en la línea de control.
- La parte de detección consiste en un gránulo que contiene conjugado fluorescente de anticuerpo IgG antietanercept, conjugado fluorescente de anticuerpo anti-IgY de pollo, conjugado de anticuerpo IgG antietanercept y biotina, albúmina sérica bovina (BSA) como estabilizador y azida de sodio como conservante en tampón Tris-HCl.
- El diluyente contiene Tween 20 como detergente y azida de sodio como conservante en solución salina tamponada con fosfato (PBS).

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.
- Siga las instrucciones y los procedimientos que se describen en estas instrucciones de uso.
- Utilice únicamente muestras recientes y evite la luz solar directa.
- Los números de lote de todos los componentes de la prueba (cartucho y chip de ID) deben coincidir.
- No intercambie los componentes de la prueba entre diferentes lotes, ni los utilice después de la fecha de caducidad, ya que podría obtener resultados incorrectos.
- No reutilice los cartuchos. Cada cartucho se debe utilizar para analizar una sola muestra.
- El cartucho debe permanecer sellado en su bolsa original hasta justo antes de su uso. No utilice el cartucho si la bolsa está dañada o ya ha sido abierta.
- Las muestras congeladas solo se deben descongelar una vez. Para su envío, las muestras se deben envasar de acuerdo con la normativa local. No se deben utilizar muestras con hemólisis importante o hiperlipidemia.
- Si los componentes de la prueba o la muestra se almacenan en la nevera, deje el cartucho y la muestra a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos antes de utilizarlos.
- El instrumento para pruebas AFIAS puede generar ligeras vibraciones durante su uso.
- Los cartuchos, las puntas capilares C-tip y las puntas de pipeta utilizados se deben manipular con cuidado y desechar utilizando un método adecuado conforme a la normativa local pertinente.
- El cartucho contiene azida de sodio (NaN₃) y puede causar ciertos problemas de salud como convulsiones, presión arterial y frecuencia cardíaca bajas, pérdida de consciencia, lesión pulmonar y fallo respiratorio. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, lave inmediatamente con agua corriente.
- No se han observado interferencias de biotina en **AFIAS Etanercept** cuando la concentración de biotina en la muestra es inferior a 500 ng/ml. Si un paciente ha estado tomando biotina en dosis superiores a 0,03 mg al día, se recomienda volver a hacer la prueba 24 horas después de interrumpir la toma de biotina.
- AFIAS Etanercept** proporcionará resultados exactos y fiables siempre que se cumplan las siguientes condiciones.
 - AFIAS Etanercept** solo se debe utilizar con el instrumento para pruebas AFIAS.

- Se debe utilizar el anticoagulante recomendado.

Anticoagulante recomendado
K ₂ EDTA, Na ₂ EDTA, citrato de sodio, heparina de litio, heparina de sodio
- La punta capilar C-tip se debe utilizar cuando se cumplan las siguientes condiciones.**
 - Se recomienda utilizar la punta capilar C-tip suministrada con el kit para garantizar el resultado correcto de la prueba.
 - Las muestras de sangre se deben analizar inmediatamente después de su extracción.
 - No efectúe la prueba con la punta capilar C-tip en «Modo general», ya que podría arrojar un resultado erróneo.
 - Se debe limpiar el exceso de sangre alrededor del extremo agudo de la punta capilar C-tip.
 - Para evitar la contaminación cruzada, no reutilice la punta capilar C-tip para varias muestras.
 - El cartucho AFIAS se debe insertar en el portacartuchos antes de extraer la muestra de sangre.
 - Durante la toma de sangre, evite que se formen burbujas de aire en la punta capilar C-tip.

LIMITACIONES DEL SISTEMA ANALÍTICO

- La prueba puede arrojar resultados falsos positivos debido a las reacciones cruzadas o a la adhesión no específica de determinados componentes de la muestra a los anticuerpos de captura o de detección.
- La prueba puede arrojar resultados falsos negativos debido a la ausencia de respuesta del fármaco a los anticuerpos, que es lo más frecuente si el epitopo queda enmascarado por determinados componentes desconocidos, por lo que no puede ser detectado ni capturado por los anticuerpos. La inestabilidad o degradación del fármaco con el tiempo o la temperatura también puede causar resultados falsos negativos, ya que hace que el fármaco sea irreconocible por los anticuerpos.
- Existen otros factores que pueden interferir en la prueba y arrojar resultados erróneos, como errores técnicos o de procedimiento, la degradación de los reactivos o componentes de la prueba, o la presencia de sustancias interferentes en las muestras de ensayo.
- Cualquier diagnóstico clínico basado en el resultado de la prueba debe ir acompañado de una valoración global por parte del médico responsable, en la que se tengan en cuenta factores como los síntomas clínicos y el resultado de otras pruebas relevantes.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Condiciones de almacenamiento			
Componente	Temperatura de almacenamiento	Período de validez	Nota
Cartucho	2-30 °C	20 meses	Sin abrir
		1 mes	Resellado

- Vuelva a colocar el cartucho no utilizado en la bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto que contiene el paquete de desecante. Reselle por la banda de cierre hermético.

MATERIAL SUMINISTRADO

- | | |
|-----|---------|
| REF | SMFP-93 |
|-----|---------|

 Componentes de **AFIAS Etanercept**

- Caja de cartuchos:

- Cartucho	24
- Punta de pipeta (bolsa con cierre hermético)	24
- Punta capilar C-tip (bolsa con cierre hermético)	24
- Bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto	1
- Chip de ID	1
- Instrucciones de uso	1

MATERIAL NECESARIO SUMINISTRADO PREVIA SOLICITUD

Se pueden adquirir los siguientes artículos por separado de **AFIAS Etanercept**.
Póngase en contacto con nuestro departamento de ventas para obtener más información.

- Instrumento para pruebas AFIAS**

- AFIAS-1	<table border="1"><tr><td>REF</td><td>FPRR019</td></tr></table>	REF	FPRR019
REF	FPRR019		
- AFIAS-3	<table border="1"><tr><td>REF</td><td>FPRR040</td></tr></table>	REF	FPRR040
REF	FPRR040		
- AFIAS-6	<table border="1"><tr><td>REF</td><td>FPRR020</td></tr></table>	REF	FPRR020
REF	FPRR020		
- AFIAS-10	<table border="1"><tr><td>REF</td><td>FPRR038</td></tr></table>	REF	FPRR038
REF	FPRR038		
- Boditech Etanercept Control**

REF	CFPO-350
-----	----------
- Boditech Etanercept Calibrator**

REF	CFPO-338
-----	----------

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El tipo de muestra utilizada en **AFIAS Etanercept** es sangre total, suero o plasma humanos.

- Se recomienda analizar la muestra en las 24 horas siguientes a su obtención.
- Las muestras (suero, plasma) se deben separar del coágulo mediante centrifugación en las 3 horas siguientes a la extracción de sangre.
- Las muestras (suero, plasma) se pueden conservar durante una semana a 2-8 °C antes de ser analizadas. Si el análisis se retrasa más de una semana, las muestras se deben congelar a -20 °C.
- Las muestras (suero, plasma) almacenadas congeladas a -20 °C durante 3 meses no mostraron diferencias de rendimiento.
- Sin embargo, la muestra de sangre total no se debe conservar en el congelador en ningún caso.
- Dado que los ciclos repetidos de congelación y descongelación pueden afectar al resultado de la prueba, no vuelva a congelar muestras previamente congeladas.
 - Sostenga la punta capilar C-tip horizontalmente y toque la superficie de la sangre con el extremo agudo de la punta.
 - La acción capilar hará pasar automáticamente la muestra de sangre a la punta capilar C-tip y luego se detendrá.
 - Limpie el exceso de sangre alrededor del extremo agudo.
 - Vuelva a comprobar que la punta capilar C-tip se ha llenado correctamente de sangre y que el instrumento para pruebas AFIAS está listo para una prueba en «Modo C-tip».

CONFIGURACIÓN DE LA PRUEBA

- Compruebe que el kit de **AFIAS Etanercept** contiene todos los componentes: cartuchos, puntas de pipeta, puntas capilares C-tip, un chip de ID, una bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto y las instrucciones de uso.
- Si el cartucho sellado se ha almacenado en la nevera, déjelo sobre una superficie limpia y plana a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos antes de llevar a cabo la prueba.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

► **AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6**

Modo general

1) Inserte un cartucho en el portacartuchos del instrumento.

2) Inserte una punta en el orificio para puntas del cartucho.

3) Seleccione «Modo general» en el instrumento para pruebas AFIAS.

4) Tome 100 µl de muestra (sangre total, suero, plasma o control) utilizando una pipeta y transfíeralos al pocillo de muestra del cartucho.

5) Pulse el botón «Inicio» en la pantalla.

6) El resultado se mostrará en pantalla transcurridos 10 minutos.

Modo C-tip

1) Inserte un cartucho en el portacartuchos del instrumento.

2) Tome 30 µl de sangre total con una punta capilar C-tip.

3) Inserte la punta capilar C-tip llena de sangre en el orificio para puntas del cartucho.

4) Seleccione «Modo C-tip» en el instrumento para pruebas AFIAS.

5) Pulse el botón «Inicio» en la pantalla.

6) El resultado se mostrará en pantalla transcurridos 10 minutos.

► **AFIAS-10**

Modo normal

1) Inserte un cartucho en el portacartuchos del instrumento.

2) Inserte una punta en el orificio para puntas del cartucho.

3) Pulse el botón «Cargar» del compartimento que contiene el cartucho con la punta para leer el código de barras del cartucho y confirme el nombre del artículo escrito en el cartucho.

4) Coloque el tubo de muestra en la gradilla.

5) Introduzca la gradilla en la parte de carga de la estación de muestreo.

6) Pulse el botón «Inicio» en la pantalla.

7) El resultado se mostrará en pantalla transcurridos 10 minutos.

Modo de urgencia – Punta general

1) El procedimiento de la prueba es el mismo que el del modo normal, pasos del 1 al 3.

2) Cambie a «Modo de urgencia» en AFIAS-10.

3) Seleccione el tipo de punta (punta general) en la pantalla.

4) Seleccione el tipo de muestra (sangre total, suero o plasma) en la pantalla.

5) Tome 100 µl de muestra utilizando una pipeta y transfíeralos al pocillo de muestra del cartucho.

6) Pulse el botón «Inicio» en la pantalla.

7) El resultado se mostrará en pantalla transcurridos 10 minutos.

Modo de urgencia – Punta capilar C-tip

1) Inserte un cartucho en el portacartuchos del instrumento.

2) Tome 30 µl de sangre total con una punta capilar C-tip.

3) Inserte la punta capilar C-tip con muestra en el orificio para puntas del cartucho.

4) Pulse el botón «Cargar» del compartimento que contiene el cartucho con la punta para leer el código de barras del cartucho y confirme el nombre del artículo escrito en el cartucho.

5) Cambie a «Modo de urgencia» en AFIAS-10.

6) Seleccione el tipo de punta (punta capilar C-tip) en la pantalla.

7) Pulse el botón «Inicio» en la pantalla.

8) El resultado se mostrará en pantalla transcurridos 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO

- El instrumento para pruebas AFIAS calcula automáticamente el resultado y visualiza en pantalla la concentración de etanercept de la muestra de ensayo expresada en µg/ml.
- Intervalo de trabajo: 0,20-10 µg/ml.

CONTROL DE CALIDAD

- Las pruebas de control de calidad forman parte de las buenas prácticas de análisis para confirmar los resultados esperados y la validez de la prueba, por lo que se deben llevar a cabo a intervalos periódicos.
- También se deben hacer pruebas de control de calidad siempre que haya alguna duda sobre la validez de los resultados.
- El material de control se suministra previa solicitud junto con **AFIAS Etanercept**. Para más información sobre la obtención del material de control, póngase en contacto con el departamento de ventas de Boditech Med Inc. (Consulte las instrucciones de uso del material de control).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

■ **Sensibilidad analítica**

- Límite del blanco

0,03 µg/ml

- Límite de detección

0,12 µg/ml

- Límite de cuantificación

0,20 µg/ml

■ **Efecto gancho a dosis altas**

No se produce efecto gancho a dosis altas con concentraciones de etanercept de hasta 30 µg/ml.

■ **Especificidad analítica**

- Reactividad cruzada

Los resultados de **AFIAS Etanercept** no revelaron ninguna reactividad cruzada significativa con estas biomoléculas.

Sustancias probadas	Concentración
Infliximab	100 µg/ml
Adalimumab	100 µg/ml
Golimumab	100 µg/ml

- Interferencia

Las sustancias interferentes enumeradas en la siguiente tabla se añadieron a la muestra de ensayo con la concentración que se indica a continuación. Los resultados de **AFIAS Etanercept** no revelaron ninguna interferencia significativa con estas sustancias.

Sustancias interferentes	Concentración
Hemoglobina	1000 mg/dl

Bilirrubina	40 mg/dl
Triglicéridos	2000 mg/dl
Factor reumatoide	200 UI/ml
Albumina sérica humana	12 g/dl

■ **Precisión**

- Estudio unicéntrico

Repetibilidad (precisión intraensayo)

Precisión intralaboratorio (precisión total)

Precisión entre lotes

Se probaron 3 lotes de **AFIAS Etanercept** durante 20 días. Cada material estándar se probó 2 veces al día. Para cada prueba, se duplicó cada material.

Etanercept [µg/ml]	Repetibilidad		Precisión intralaboratorio		Precisión entre lotes	
	Media [µg/ml]	CV (%)	Media [µg/ml]	CV (%)	Media [µg/ml]	CV (%)
0,5	0,51	8,1	0,51	7,7	0,51	7,7
1	1,02	8,0	1,01	7,7	1,00	8,1
5	5,00	6,3	5,00	6,2	4,96	6,4

- Estudio multicéntrico

Reproducibilidad

Se probó un lote de **AFIAS Etanercept** durante 5 días en 3 centros diferentes (1 persona en cada centro, 1 instrumento en cada centro). Cada material estándar se probó 1 vez y con 5 réplicas por día.

Estudio multicéntrico		
Etanercept [µg/ml]	Reproducibilidad	
	Media [µg/ml]	CV (%)
0,5	0,50	5,8
1	1,00	6,1
5	4,98	5,6

■ **Exactitud**

La exactitud se confirmó mediante pruebas con 3 lotes diferentes de **AFIAS Etanercept**. Las pruebas se repitieron 10 veces con cada concentración del estándar de control.

Etanercept [µg/ml]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media [µg/ml]	Recuperación (%)
1,45	1,54	1,48	1,53	1,52	104,7
1,90	1,94	1,91	1,91	1,92	101,1
2,80	2,89	2,87	2,96	2,91	103,9
4,60	4,73	4,69	4,76	4,73	102,7
6,40	6,62	6,54	6,45	6,54	102,1
9,10	9,22	9,43	9,13	9,26	101,8

■ **Comparabilidad**

La concentración de etanercept de 80 muestras clínicas se cuantificó de manera independiente con **AFIAS Etanercept (AFIAS-6)** y el **comparador A** conforme a los procedimientos de prueba establecidos. Se compararon los resultados de la prueba y se investigó su comparabilidad mediante regresión lineal y coeficiente de correlación (R). La ecuación de regresión y el coeficiente de correlación son los siguientes.

REFERENCIAS

1. “Establishment of the first WHO International Standard for etanercept, a TNF receptor II Fc fusion protein: Report of an international collaborative study”, Journal of Immunological Methods, 9 March 2017.
2. “Therapeutic drug monitoring of tumour necrosis factor inhibitors in the management of chronic inflammatory diseases”, Annals of Clinical Biochemistry 2019, 09 May 2018.
3. “Use of anti-TNF drug levels to optimise patient management”, Frontline Gastroenterology 2016, 23 January 2016.
4. “Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up” JAMA, April 13 2011.
5. “Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis.”, Arthritis Rheum, March 2006
6. “Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients”, Ann Rheum Dis 2012, September 12 2011.
7. “Effective serum level of etanercept biosimilar and effect of antidrug antibodies on drug levels and clinical efficacy in Chinese patients with ankylosing spondylitis”, Clinical Rheumatology, 28 December 2018.

Form-GE02-15 (Rev. 04)

2 / 3

Nota: en la siguiente tabla se explican los diferentes símbolos.

	Sufficient for <n> tests
	Read instruction for use
	Use by Date
	Batch code
	Catalog number
	Caution
	Manufacturer
	Authorized representative of the European Community
	In vitro diagnostic medical device
	Temperature limit
	Do not reuse
	This product fulfills the requirements of the Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices

Si desea obtener asistencia técnica, póngase en contacto con:
Ventas Técnicas de Boditech Med Inc.
Tel.: +(82) -33 243-1400
Correo electrónico: TS@boditech.co.kr

 **Boditech Med Inc.**
43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si,
Gang-won-do, 24398, República de Corea
Tel.: +(82) -33-243-1400
Fax: +(82) -33-243-9373
www.boditech.co.kr

 **Obelis s.a**
Bd. Général Wahis 53, 1030 Bruselas, Bélgica
Tel.: +(32) -2-732-59-54
Fax: +(32) -2-732-60-03
Correo electrónico: mail@obelis.net

 