



AFIAS

Free Anti-Rituximab

USO ORIGINAL

AFIAS Free Anti-Rituximab es un inmunoensayo de fluorescencia (FIA) para la determinación cuantitativa de anticuerpos libres contra rituximab en sangre entera/suero humano.

Sólo para uso de diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

El rituximab es un anticuerpo monoclonal quimérico que incluye regiones constantes de IgG1 humana y una región variable murina anti-CD20 humana que puede lisar los linfocitos B (células CD20+).^[1,2] Fue el primero en utilizarse en el tratamiento del Linfoma no Hodgkin, sin embargo, se utiliza ahora en muchas enfermedades autoinmunes, como la nefropatía membranosa (NM), la leucemia linfocítica crónica (LLC), la artritis reumatoide (AR), la granulomatosis con poliangitis (GPA) y la poliangitis microscópica (PAM), con una eficacia y tolerabilidad excelentes comparación con los regímenes de tratamiento más convencionales.^[3,4,5,6,7]

Sin embargo, la administración de rituximab para el tratamiento del cáncer puede causar inmunogenicidad, lo que conduce a la inducción de anticuerpos antirreactivos (ADA). La producción de ADA puede afectar negativamente a la eficacia, la farmacocinética y los perfiles de seguridad del fármaco. Por lo tanto, la medición de los anticuerpos anti-rituximab tiene un mayor impacto en la etiología del fracaso del tratamiento.^[8,9,10]

AFIAS Free Anti-Rituximab se utiliza para la detección cuantitativa de anticuerpos libres contra rituximab en suero y sangre entera. Esta prueba podría ayudar al médico al facilitar información relevante para el tratamiento terapéutico adecuado.

PRINCÍPIO

La prueba **AFIAS Free Anti-Rituximab** utiliza un inmunoensayo puente para la detección de anticuerpos contra el rituximab. Los anticuerpos anti-rituximab de la muestra se unen a rituximab marcado con fluorescencia y biotina, llevando a la formación de un inmunocomplejo. Este inmunocomplejo migra a través de la matriz de nitrocelulosa y se capta por la estreptavidina inmovilizada en la tira reactiva.

Más anticuerpos contra rituximab en la muestra formarán más inmunocomplejos y mayor será la intensidad de la señal de fluorescencia que procesa el instrumento AFIAS para presentar la concentración de anticuerpos anti-rituximab.

COMPONENTES

El **AFIAS Free Anti-Rituximab** se compone de «cartuchos».

- Cada bolsa de aluminio sellada contiene dos cartuchos.
- Cada cartucho envasado en una bolsa de aluminio tiene tres componentes, incluyendo una parte de cartucho, una parte de detección y una parte diluyente.
- La parte de cartucho contiene la membrana llamada tira reactiva que contiene estreptavidina en la línea de prueba e IgY de pollo en la línea de control.

- La parte del detector tiene dos gránulos que contienen conjugado de fluorescencia anti-rituximab conjugado de fluorescencia IgY antipollo y conjugado de rituximab-biotina en tampón tris-hidrocloruro.
- El diluyente contiene tween 20 y azida sódica como conservante en solución salina tamponada con fosfato.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso de diagnóstico *in vitro*.
 - Siga las instrucciones y procedimientos descritos en estas «Instrucciones de uso».
 - Utilice sólo muestras frescas y evite la luz solar directa.
 - Los números de lote de todos los componentes de la prueba (cartucho y chip de identificación) deben coincidir entre sí.
 - No intercambie los componentes de la prueba entre diferentes lotes ni utilice los componentes de la prueba después de su fecha de caducidad, ya que en ambos casos podría obtener resultados incorrectos.
 - No reutilice los cartuchos. Un cartucho sólo debe utilizarse para la prueba de una sola muestra.
 - El cartucho debe permanecer sellado en su bolsa original hasta justo antes de su uso. No utilice un cartucho si la bolsa está dañada o ya ha sido abierta.
 - La muestra congelada debe descongelarse una sola vez. Para su envío, deben envasarse las muestras de acuerdo con la normativa local. No deben utilizarse muestras con hemólisis grave y/o hiperlipidemia.
 - Si los componentes de la prueba y/o la muestra se almacenan en el frigorífico, permita que el cartucho y la muestra estén a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos antes de utilizarlos.
 - El instrumento para las pruebas AFIAS puede generar ligeras vibraciones durante su uso.
 - Los cartuchos, las puntas capilares y las puntas de pipeta usados deben manipularse con cuidado y desecharse mediante un método adecuado de acuerdo con la normativa local pertinente.
 - El cartucho contiene azida sódica (NaN₃), y puede causar ciertos problemas de salud como convulsiones, presión arterial baja, frecuencia cardíaca baja, pérdida de conciencia, lesiones pulmonares e insuficiencia respiratoria. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, lavar inmediatamente con agua corriente.
 - No se ha observado interferencia de biotina en **AFIAS Free Anti-Rituximab** cuando la concentración de biotina en la muestra era inferior a 200 ng/mL. Si un paciente ha estado tomando biotina en dosis superiores a 0,03 mg al día, se recomienda volver a realizar la prueba 24 horas después de interrumpir la ingesta de biotina.
 - El **AFIAS Free Anti-Rituximab** proporcionará resultados precisos y fiables si se ha usado bajo a las siguientes condiciones.
 - Solo debe utilizarse el **AFIAS Free Anti-Rituximab** junto con el instrumento para pruebas AFIAS.
 - Debe utilizar el anticoagulante recomendado.
- | Anticoagulante recomendado |
|---|
| K ₂ EDTA, Na ₂ EDTA, citrato de Na, Heparina de Litio, heparina de Na |
- La punta capilar debe utilizarse cuando se observen las siguientes condiciones.
 - Se recomienda utilizar la punta capilar suministrada con el

kit para obtener un resultado correcto de la prueba.

- Debe analizarse la sangre completa inmediatamente después de la extracción.
- No realice una prueba con la punta capilar en modo general. Al proceder así podría provocar un resultado erróneo.
- Debe limpiarse el exceso de sangre entera alrededor de la punta capilar.
- Para evitar la contaminación cruzada, no reutilice la punta capilar para múltiples muestras.
- Inserte el cartucho AFIAS en el soporte del cartucho antes de la recogida de la muestra de sangre.
- Durante la recogida de sangre debe tenerse el cuidado de no crear burbujas de aire en la punta capilar.

LIMITACIONES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

- La prueba puede arrojar resultado(s) falso(s) positivo(s) debido a las reacciones cruzadas y/o a la adhesión no específica de ciertos componentes de la muestra a los anticuerpos de captura/detección.
- La prueba puede arrojar resultado(s) falso(s) negativo(s) debido a la no respuesta de los anticuerpos antifármaco, que es lo más común si el epítipo está enmascarado por algunos componentes desconocidos, por lo que no puede ser detectado o captado por los anticuerpos. La inestabilidad o degradación del anticuerpo antifármaco con el tiempo y/o la temperatura también puede causar un resultado falso negativo, ya que hace que el fármaco sea irreconocible por los anticuerpos.
- Otros factores podrán interferir con la prueba y provocar resultados erróneos, como errores técnicos/de procedimiento, degradación de los componentes/reactivos de la prueba o presencia de sustancias interferentes en las muestras de la prueba.
- Cualquier diagnóstico clínico basado en el resultado de la prueba debe estar respaldado por un juicio exhaustivo del médico correspondiente junto con los síntomas clínicos y otros resultados relevantes de la prueba.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Componente	Condiciones de almacenamiento		
	Temperatura de almacenamiento	Tiempo de conservación	Nota
Cartucho	2 - 30 °C	20 meses	Por abrir
		1 mes	Sellado de nuevo

- Vuelva a colocar un cartucho no utilizado en la bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto que contiene el paquete de desecante. Vuelva a sellar a lo largo de todo el borde del cierre de cierre hermético.

MATERIALES SUMINISTRADOS

REF SMFP-97

Componentes del **AFIAS Free Anti-Rituximab**

- Una Caja de Cartuchos contiene
 - Cartucho 24
 - Punta de pipeta (Bolsa con cierre hermético) 24
 - Punta capilar (30 µl) (Bolsa con cierre hermético) 24
 - Chip de Identificación 1
 - Bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto 1

- Instrucciones de uso

1

MATERIALES NECESARIOS PERO SUMINISTRADOS BAJO

Los siguientes artículos se pueden adquirir por separado con **AFIAS Free Anti-Rituximab**.

Póngase en contacto con nuestra división de ventas para obtener más información.

■ Instrumento para pruebas AFIAS

- **AFIAS-1**
- **AFIAS-3**
- **AFIAS-6**
- **AFIAS-10**

■ Boditech Anti-Rituximab Control

■ Boditech Anti-Rituximab Calibrator

REF	FPRR019
REF	FPRR040
REF	FPRR020
REF	FPRR038
REF	CFPO-325
REF	CFPO-343

RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

El tipo de muestra para **AFIAS Free Anti-Rituximab** es sangre entera/suero humano.

- Se recomienda analizar la muestra en las 24 horas siguientes a la recogida cuando ésta se almacene a temperatura ambiente.
- Las muestras (suero) deben separarse del coágulo mediante centrifugación en las 3 horas siguientes a la recogida de sangre completa.
- Las muestras (sangre completa, suero) pueden almacenarse durante una semana a 2- 8 °C antes de analizarse. Si se va a retrasar la prueba más de una semana, el suero debe congelarse a -20 °C.
- Las muestras (suero) almacenadas congeladas a -20 °C a lo largo de 3 meses no han presentado diferencias de rendimiento.
- Sin embargo, la muestra de sangre completa no debe conservarse en un congelador en ningún caso.
- Dado que un ciclo repetido de congelación-descongelación podría afectar al resultado de la prueba, no vuelva a congelar muestras previamente congeladas.
- Recogida de la muestra de sangre entera con punta capilar.

- ① Sujete la punta capilar horizontalmente y toque la superficie de la sangre con la punta de la punta capilar.
- ② La acción capilar extraerá automáticamente la muestra de sangre hacia la punta capilar y se detendrá.
- ③ Limpie cualquier exceso de sangre alrededor de la punta.
- ④ Vuelva a comprobar si la sangre entera se ha llenado correctamente en la punta capilar y si el instrumento para pruebas AFIAS está preparado para una prueba en el «modo C-tip».

CONFIGURACIÓN DE LA PRUEBA

- Compruebe los componentes del **AFIAS Free Anti-Rituximab** como se describe a continuación: Cartuchos, puntas de pipeta, puntas capilares, un chip de identificación, una bolsa con cierre hermético para el cartucho de repuesto y unas instrucciones de uso.
- Asegúrese que el número de lote del cartucho coincide con el del chip de identificación.
- Si el cartucho sellado se ha almacenado en un frigorífico, colóquese en una superficie limpia y plana a temperatura ambiente durante al menos 30 minutos antes de realizar la prueba.
- Encienda el instrumento para las pruebas AFIAS.

- Vacíe la caja de puntas de pipeta.
- Inserte el chip de identificación en el «puerto para chip de identificación».
- ✘ **Consulte el manual de instrucciones del instrumento para pruebas AFIAS para obtener información completa e instrucciones de funcionamiento.**

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

► AFIAS-1, AFIAS-3, AFIAS-6

Modo General

- 1) Inserte un cartucho en el soporte para cartuchos.
- 2) Inserte una punta de pipeta en el agujero para puntas del cartucho (Tip).
- 3) Seleccione el modo «Prueba General» en el instrumento para pruebas AFIAS.
- 4) Tome 100 µL de muestra (sangre entera/suero/control) utilizando una pipeta y dispóngala en el pocillo de muestra del cartucho (sample).
- 5) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 6) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 12 minutos.

Modo C-tip

- 1) Inserte un cartucho en el soporte para cartuchos.
- 2) Tome 30 µL de sangre entera con una punta capilar.
- 3) Inserte la punta capilar llena de sangre entera en el agujero para puntas del cartucho (Tip).
- 4) Seleccione el «Modo C-tip» en el instrumento para pruebas AFIAS.
- 5) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 6) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 12 minutos.

► AFIAS-10

Modo Normal

- 1) Inserte un cartucho en el soporte para cartuchos.
- 2) Inserte una punta de pipeta en el agujero para puntas del cartucho.
- 3) Pulse el botón «Descargado» en el compartimento que sujeta el cartucho con la punta para leer el código de barras del cartucho y confirme el nombre del artículo escrito en el cartucho (Tip).
- 4) Inserte el tubo de muestra en la gradilla.
- 5) Inserte la gradilla en la parte de carga de la estación de muestreo.
- 6) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 7) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 12 minutos.

Modo de emergencia – Punta General

- 1) El procedimiento de prueba es el mismo que el del «Modo normal 1) - 3)».
- 2) Seleccione el modo «Prueba de emergencia» en el AFIAS-10.
- 3) Seleccione el tipo de punta (punta general) en la pantalla.
- 4) Seleccione el tipo de muestra (sangre entera/suero) en la pantalla.
- 5) Recoja 100 µL de muestra utilizando una pipeta y dispóngala en el pocillo de muestra del cartucho (Tip).
- 6) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 7) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 12 minutos.

Modo de emergencia – C-tip

- 1) Inserte un cartucho en el soporte para cartuchos.
- 2) Tome 30 µL de sangre entera con una punta capilar.
- 3) Inserte una punta capilar con la muestra en el agujero para puntas del cartucho (Tip).
- 4) Pulse el botón «Descargado» en el compartimento que sujeta el cartucho con la punta para leer el código de barras del cartucho y confirme el nombre del artículo escrito en el cartucho.
- 5) Pase al modo «Prueba de emergencia» en el AFIAS-10.
- 6) Seleccione el tipo de punta (punta capilar) en la pantalla.
- 7) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 8) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 12 minutos.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE LA PRUEBA

- El instrumento para pruebas AFIAS calcula automáticamente el resultado de la prueba y presenta la concentración de anti-rituximab de la muestra de la prueba en términos de AU/mL.
- Rango de funcionamiento: 5 - 200 ng/mL

CONTROL DE CALIDAD

- Las pruebas de control de calidad forman parte de las buenas prácticas de prueba para confirmar los resultados esperados y la validez de la prueba y deben realizarse a intervalos regulares.
- Las pruebas de control de calidad también se deben realizar siempre que exista alguna duda sobre la validez de los resultados de la prueba.
- Los materiales de control se proporcionan a solicitud con el **AFIAS Free Anti-Rituximab**. Para más información sobre la obtención de los materiales de control, póngase contacto con la [División de Ventas de Boditech Med Inc. para obtener ayuda](#). (Consulte las instrucciones de uso del material de control).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

- **Sensibilidad analítica**
 - Límite de Blanco (LoB) 0,92 ng/mL
 - Límite de Detección (LoB) 2,20 ng/mL
 - Límite de Cuantificación (LOQ) 5,00 ng/mL
- **Efecto gancho de dosis alta**
No hay efecto gancho de dosis alta en concentraciones de anticuerpo anti-rituximab 2.000 ng/mL.
- **Especificidad analítica**
 - Reactividad cruzada
Se han añadido biomoléculas como las que se indican a continuación a la(s) muestra(s) de prueba en concentraciones muy superiores a sus niveles fisiológicos normales en la sangre. Los resultados de la prueba **AFIAS Free Anti-Rituximab** no han presentado ninguna reactividad cruzada significativa con estas biomoléculas.

Reactivos cruzados	Concentración
Infliximab	100 µg/mL
Adalimumab	100 µg/mL
Etanercept	100 µg/mL
Golimumab	100 µg/mL
Anticuerpo anti-infliximab	1000 ng/mL
Anticuerpo anti-adalimumab	1000 ng/mL

Anticuerpo anti-etanercept	1000 ng/mL
Anticuerpo anti-golimumab	1000 ng/mL

- Interferencia

Los interferentes que se indican a continuación en la tabla siguiente se han añadido a la muestra de prueba en la concentración mencionada a continuación. Los resultados de la prueba **AFIAS Free Anti-Rituximab** no han presentado ninguna interferencia significativa con estos materiales.

Interferentes	Concentración
Hemoglobina	1.000 mg/dL
Bilirrubina (conjugada)	40 mg/dL
Triglicéridos	1.500 mg/dL
Factor reumatoide	200 IU/mL
Albúmina de suero humano	6 g/dL

■ Precisión

- Estudio unicentrico

Repetibilidad (precisión dentro de la serie)

withiPrecisión dentro de laboratorio (Precisión total)

Precisión lote a lote

Se han probado 3 Lotes de **AFIAS Free Anti-Rituximab** durante 20 días. Se ha probado cada material estándar 2 veces al día. Para cada prueba, se ha duplicado cada material.

Free Anti-Rituximab [ng/mL]	Repetibilidad		Dentro del laboratorio Precisión		Precisión lote a lote	
	AVG [ng/mL]	CV (%)	AVG [ng/mL]	CV (%)	AVG [ng/mL]	CV (%)
10	9,94	5,5	9,91	5,3	9,94	5,2
30	30,56	5,2	30,55	5,7	30,46	5,4
100	99,43	5,8	100,17	6,0	99,79	5,7

- Estudio multicéntrico

Reproducibilidad

Se ha probado 1 lote de **AFIAS Free Anti-Rituximab** durante 5 días en 3 sitios diferentes (1 persona por 1 sitio, 1 instrumento por 1 sitio). Cada material estándar se ha probado 1 vez y con 5 réplicas por día.

Free Anti-Rituximab [ng/mL]	Estudio multicéntrico Reproducibilidad	
	AVG [ng/mL]	CV (%)
10	9,96	5,9
30	29,91	5,6
100	100,22	5,8

■ Exactitud

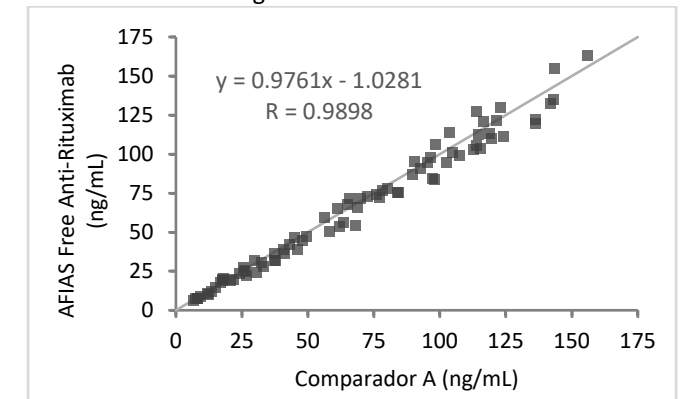
La precisión se ha confirmado mediante pruebas con 3 lotes diferentes de **AFIAS Free Anti-Rituximab**. Las pruebas se han repetido 10 veces con cada concentración del estándar de control.

Conc. [ng/mL]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	AVG	Recuperación (%)
6,95	6,69	6,32	6,25	6,42	92,4
24,50	23,20	25,10	23,99	24,10	98,4
44,00	45,54	45,57	48,14	46,42	105,5
83,00	82,90	83,52	79,52	81,98	98,8
122,00	124,70	123,65	126,75	125,03	102,5
180,50	182,18	180,01	174,14	178,78	99,0

■ Comparabilidad

La concentración del anticuerpo anti-rituximab en 80 de muestras clínicas se ha cuantificado de forma independiente


con **AFIAS Free Anti-Rituximab** y el **comparador A (ELISA)** según los procedimientos de prueba prescritos. Se han comparado los resultados de las pruebas y se ha investigado su comparabilidad con la regresión lineal y el coeficiente de correlación (R). La ecuación de regresión y el coeficiente de correlación son los siguientes.














REFERENCIAS

1. Hultin LE, Hausner MA, Hultin PM, Giorgi JV. CD20 (pan-B cell) antigen is expressed at a low level on a subpopulation of human T lymphocytes. *Cytometry* 1993; 14:196-204; PMID:7679964; <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.990140212>.
2. Shaw T, Quan J, Totoritis MC. B cell therapy for rheumatoid arthritis: the rituximab (anti-CD20) experience. *Ann Rheum Dis* 2003; 62:55-9; PMID:14532151; http://dx.doi.org/10.1136/ard.62.suppl_2.ii55.
3. Wojciechowski, W.; Harris, D.P.; Sprague, F.; Mousseau, B.; Makris, M.; Kusser, K.; Honjo, T.; Mohrs, K.; Mohrs, M.; Randall, T.; et al. Cytokine-producing effector B cells regulate type 2 immunity to H. polygyrus. *Immunity* 2009, 30, 421–433.
4. Hoffman, W.; Lakkis, F.G.; Chalasani, G. B Cells, Antibodies, and More. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2016, 11, 137–154.
5. Beck, L.H.; Bonegio, R.G.B.; Lambeau, G. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in primary membranous nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 2009, 361, 11–21.
6. Hofstra, J.M.; Beck, L.H.; Beck, D.M. Anti-phospholipase A2receptor antibodies correlate with clinical status in primary membranous nephropathy. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011, 6, 1286–1291.
7. Hoxha, E.; Thiele, I.; Zahner, G. Phospholipase A2 receptor autoantibodies and clinical outcome in patients with primary membranous nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.*
8. Getts DR, Getts MT, McCarthy DP, Chastain EM, Miller SD. Have we overestimated the benefit of humanized antibodies? *MAbs*.2010;2:682–94.
9. Harding FA, Stickler MM, Razo J, DuBridge RB. The immunogenicity of humanized and fully human antibodies: residual immunogenicity resides in the CDR regions. *MAbs*. 2010;2:256–65. doi:10.4161/ mabs.2.3.11641.
10. Krishna M, Nadler SG. Immunogenicity to Biotherapeutics – The Role of Anti-drug Immune Complexes. *Front Immunol.* 2016;7:21. doi:10.3389/fimmu.2016.00021.

Nota: Consulte la tabla siguiente para identificar los distintos símbolos.

	Suficiente para <n> pruebas
---	-----------------------------

	Lea las instrucciones de uso
	Fecha de caducidad
	Código de lote
	Número de catálogo
	Precaución
	Fabricante
	Representante autorizado de la Comunidad Europea
	Productos sanitarios de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límite de temperatura
	No reutilizar
	Este producto cumple los requisitos de la Directiva 98/79/CE sobre productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con
Boditech Med Inc.'s Technical Services (Servicios técnicos 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

E-Mail: mail@obelis.net

