



AFIAS Rituximab

USO ORIGINAL

AFIAS Rituximab es un inmunoensayo de fluorescencia (FIA) para la determinación cuantitativa de rituximab libre en sangre entera/suero/plasma humano.

Sólo para uso de diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La molécula CD20 humana es una fosfoproteína no glicosilada que se expresa tanto en los linfocitos B normales como en los transformados. Las partes extracelulares son objetivos de unión ideales para la terapia basada en anticuerpos monoclonales anti-CD20 para las neoplasias malignas de células B y las enfermedades autoinmunes relacionadas con las células B.^[1,2]

El rituximab es un anticuerpo monoclonal recombinante quimérico/humano IgG1 kappa dirigido contra el antígeno CD20 que se encuentra en la superficie de los linfocitos B normales y malignos. Recibió la primera aprobación para el tratamiento del linfoma no Hodgkin (LNH) de células B por parte de la Administración de Alimentos y Medicamentos (EE.UU.). Ha recibido aprobaciones adicionales para múltiples usos quimioterapéuticos, incluyendo la leucemia linfocítica crónica (LLC), la artritis reumatoide (AR), la granulomatosis con poliangitis (GPA) y la poliangitis microscópica (MPA).^[3,4,5]

A pesar del uso generalizado del rituximab, su variabilidad farmacocinética es una preocupación importante que afecta a la respuesta clínica a los anticuerpos anti-CD20. Publicaciones clínicas recientes sugieren que las concentraciones plasmáticas de rituximab se correlacionan con las respuestas al tratamiento, por lo que la individualización de la dosis mediante la medición de la concentración del fármaco puede ayudar a mejorar sus tasas de respuesta.^[6,7,8]

AFIAS Rituximab se ha desarrollado para medir cuantitativamente los niveles de fármaco de rituximab libre en plasma, suero y sangre total.

AFIAS Rituximab cuantifica por igual entre rituximab original (MabThera®) y cualquier biosimilar como CT-P10 (Truxima®).

AFIAS Rituximab se ha calibrado ante el estándar internacional de la OMS (código NIBSC: 14/210) por Rituximab.

PRINCÍPIO

La prueba utiliza un método de inmunodetección «en sándwich».

Los anticuerpos anti-rituximab marcados con fluorescencia y biotina en tampón se unen al rituximab de la muestra, formando complejos fármaco-anticuerpo, y migran a la matriz de nitrocelulosa para ser captados por la otra estreptavidina inmovilizada en la tira reactiva.

Más rituximab en la muestra formará más complejos fármacos-anticuerpo que conducen a una mayor intensidad de la señal de fluorescencia, que es procesada por el instrumento para las pruebas AFIAS para mostrar la concentración de rituximab en la muestra.

COMPONENTES

El **AFIAS 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 detectora contiene un gránulo con conjugado fluorescente anti-rituximab, conjugado fluorescente anti-IgY de pollo, conjugado de biotina anti-rituximab IgG y albúmina sérica bovina (BSA) como estabilizador en tampón tris-hidrocloruro.
- La parte diluyente contiene tween 20 como detergente y azida sódica como conservante en tampón tris-hidrocloruro.

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 Rituximab** cuando la concentración de biotina en la muestra era 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 realizar la prueba 24 horas después de interrumpir la ingesta de biotina.
- El **AFIAS Rituximab** proporcionará resultados precisos y fiables si se ha usado bajo a las siguientes condiciones.
 - Solo debe utilizarse el **AFIAS Rituximab** con el instrumento

para pruebas AFIAS.

- Debe utilizar el anticoagulante recomendado.

Anticoagulante recomendado

K₂ EDTA, Na₂ EDTA, Citrato de Sodio,
Heparina de Litio, Heparina de Sodio

- **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 fármacos a los anticuerpos, que es lo más común si el epitopo está enmascarado por algunos componentes desconocidos, por lo que no puede ser detectado o captado por los anticuerpos. La inestabilidad o degradación del fármaco 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

Condiciones de almacenamiento			
Componente	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-110

Componentes del **AFIAS Rituximab**

- Caja de cartuchos:
 - Cartucho 24
 - Punta de pipeta (Bolsa con cierre hermético) 24
 - Punta capilar (30 µl) (Bolsa con cierre hermético) 24
 - Bolsa con cierre hermético para cartuchos de repuesto 1
 - Chip de Identificación 1
 - Instrucciones de uso 1

MATERIALES NECESARIOS PERO SUMINISTRADOS BAJO DEMANDA

Los siguientes artículos se pueden adquirir por separado de **AFIAS Rituximab**.

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

- **Instrumento para pruebas AFIAS**

- **AFIAS-1** REF FPRR019
- **AFIAS-3** REF FPRR040
- **AFIAS-6** REF FPRR020
- **AFIAS-10** REF FPRR038

- **Boditech Rituximab Control** REF CFPO-324

- **Boditech Rituximab Calibrator** REF CFPO-342

RECOGIDA Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS

El tipo de muestra para **AFIAS Rituximab** es sangre entera/suero/plasma humano.

- Se recomienda analizar la muestra en las 24 horas siguientes a la recogida cuando ésta se almacene a temperatura ambiente.
- Las muestras (suero, plasma) deben separarse del coágulo mediante centrifugación en las 3 horas siguientes a la recogida de sangre completa.
- Las muestras (suero, plasma) pueden almacenarse durante una semana a 2- 8 °C antes de analizarse. Si se va a retrasar la prueba más de una semana, las muestras (suero, plasma) deben congelarse a -20 °C.
- Las muestras (suero, plasma) 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.

- 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 completa 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 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 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.
- 3) Seleccione el modo «Prueba General» en el instrumento para pruebas AFIAS.
- 4) Tome 100 µL de muestra (sangre entera/suero/plasma/control) utilizando una pipeta y dispóngala en el pocillo de muestra del cartucho.
- 5) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 6) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 8 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 8 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 (Tip).
- 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.
- 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 8 minutos.

Modo de emergencia – Punta General

- 1) El procedimiento de prueba es el mismo que el del «Modo normal 1) - 3)».
- 2) Pase al modo «Modo 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/plasma) en la pantalla.
- 5) Tome 100 µL de muestra utilizando una pipeta y

- 6) dispóngala en el pocillo de muestra del cartucho.
- 6) Pulse el botón «Iniciar» en la pantalla.
- 7) Los resultados de la prueba estarán disponibles en la pantalla en 8 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) Seleccione el 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 8 minutos.

INTERPRETACIÓN DEL RESULTADO DE LA PRUEBA

- El instrumento para pruebas AFIAS calcula automáticamente el resultado de la prueba y presenta la concentración de rituximab de la muestra de la prueba en términos de µg/mL.
- Rango de funcionamiento: 5-300 µg/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 con **AFIAS Rituximab** bajo solicitud. Para más información sobre la obtención de los materiales de control, póngase en 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) 0,90 µg/mL
 - Límite de Detección (LoB) 1,47 µg/mL
 - Límite de Cuantificación (LoB) 5,00 µg/mL
- Efecto gancho de dosis alta**
No hay efecto gancho de dosis alta en concentraciones de rituximab de hasta 1.200 µg/mL.
- Especificidad analítica**
 - Reactividad cruzada
Los resultados de la prueba **AFIAS 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

Bevacizumab	500 µg/mL
Ustekinumab	500 µg/mL
Trastuzumab	500 µg/mL
Vedolizumab	500 µg/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 Rituximab no han presentado ninguna interferencia significativa con estos materiales.

Interferentes	Concentración
Hemoglobina	1.000 mg/dL
Bilirrubina	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)**
- Precisión dentro del laboratorio (precisión total)**
- Precisión lote a lote**

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

Rituximab [µg/mL]	Repetibilidad		Dentro del laboratorio Precisión		Precisión lote a lote	
	AVG [µg/mL]	CV (%)	AVG [µg/mL]	CV (%)	AVG [µg/mL]	CV (%)
8	8,12	7,6	8,09	7,7	8,13	7,1
60	63,84	7,2	62,58	8,1	62,25	8,0
150	161,73	9,4	158,41	8,6	158,14	9,0

- **Estudio multicéntrico**

Reproducibilidad

Se ha probado 1 lote de **AFIAS 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.

Rituximab [µg/mL]	Estudio multicéntrico	
	Reproducibilidad	
	AVG [µg/mL]	CV (%)
8	7,97	5,9
60	59,94	6,1
150	150,29	5,5

■ **Exactitud**

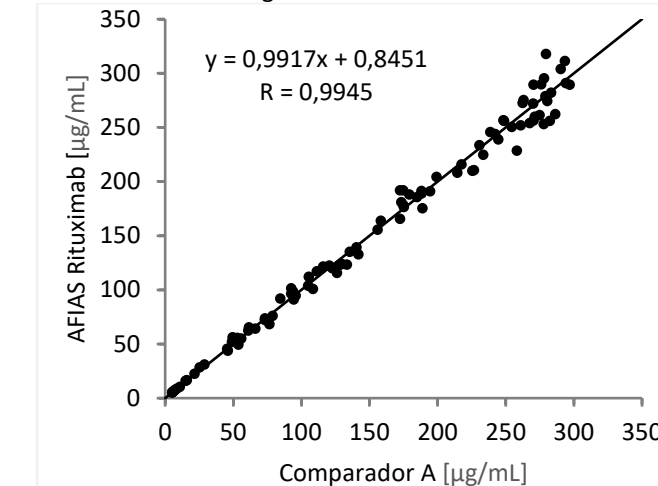
La precisión se ha confirmado mediante pruebas con 3 lotes diferentes de **AFIAS Rituximab**. Las pruebas se han repetido 10 veces con cada concentración del estándar de control.

Rituximab [µg/mL]	Estudio multicéntrico					Recuperación (%)
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	AVG	CV (%)	
8,0	8,02	8,04	8,25	8,10	102%	
19,8	20,67	20,30	20,10	20,36	103%	
34,5	34,94	35,38	35,86	35,39	103%	
64,0	63,30	64,82	63,79	63,97	100%	
182,0	180,87	184,94	187,05	184,29	101%	
241,0	246,69	242,89	238,81	242,80	101%	

■ **Comparabilidad**

Las concentraciones de 100 muestras clínicas se han cuantificado de forma independiente con el **AFIAS Rituximab (AFIAS-6)** y el **comparador A** 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. "CD20-Targeted Therapy : The Next Generation of Antibodies, Seminars in Hematology." Tom van Meertena and Anton Hagenbeekb. 2010.
2. "The regulation and function of CD20: an "enigma" of B-cell biology and targeted therapy." Gabriela Pavlasova and Marek Mraz. 2020
3. "Rituximab for non-Hodgkin's lymphoma: a story of rapid success in translation." Andrew M Harrison 1, Nassir M Thalji, Alexandra J Greenberg, Carmen J Tapia, Anthony J Windebank. 2014.
4. "Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis." Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, Emery P, Close DR, Stevens. 2004.
5. "Rituximab for refractory Wegener's granulomatosis: report of a prospective, open-label pilot trial." Keogh KA, Ytterberg SR, Fervenza FC, Carlson KA, Schroeder DR, Specks U. 2006.
6. "Interindividual Variability of Response to Rituximab: From Biological Origins to Individualized Therapies" Guillaume Cartron, Ralf Ulrich Trappe, Philippe Solal-Celigny, and Michael Hallek. 2011.
7. "Extended Rituximab (antiCD20 monoclonal antibody) therapy for relapsed or refractory lowgrade or follicular non-Hodgkin's Lymphoma." Piro LD, White CA, Grillo-Lopez AJ, et al. 1999.
8. "Long-term follow-up of patients with follicular lymphoma (FL) receiving single agent rituximab at two different schedules in study SAKK 35/38." Ghielmini M, Schmitz SH, Martinelli G, et al. 2009.

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