



AFIAS

Free Anti-Etanercept

USO PREVISTO

AFIAS Free Anti-Etanercept es un fluoroinmunoanálisis (FIA) para la determinación cuantitativa de anticuerpos libres anti-tanercept en sangre total o suero humanos.

Para uso exclusivo en diagnóstico *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

El etanercept es una proteína dimérica de fusión que consiste en el dominio extracelular del receptor del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) humano p75 unido al dominio Fc de la inmunoglobulina 1 (IgG1) humana, 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 (iTNF).^[1]

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.^[2,3] La principal preocupación de la pérdida de respuesta clínica es el desarrollo de anticuerpos contra los fármacos anti-TNF. Ello puede hacer que se una específicamente a estos fármacos y los neutralice o elimine, lo que reduciría su eficacia.^[4]

Por lo tanto, la implementación de la monitorización terapéutica de fármacos en la práctica clínica habitual puede mejorar la eficacia y la seguridad del tratamiento con fármacos anti-TNF.^[5,6,7]

AFIAS Free Anti-Etanercept se utiliza para la detección cuantitativa de anticuerpos libres anti-tanercept en sangre total o suero. Esta prueba podría proporcionar información relevante sobre el tratamiento adecuado.

PRINCIPIO

Esta prueba utiliza un inmunoensayo de doble captura para la detección de anticuerpos anti-tanercept.

Los anticuerpos anti-tanercept de la muestra se unen al etanercept marcado con fluorescencia y biotina para formar inmunocomplejos, los cuales migran a través de la matriz de nitrocelulosa y son capturados por la estreptavidina inmovilizada en la tira reactiva.

Cuanto más anticuerpos anti-tanercept haya en la muestra, más inmunocomplejos 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 anticuerpos libres anti-etanercept en la muestra.

COMPONENTES

AFIAS Free Anti-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 2 gránulos que contienen conjugado fluorescente de etanercept, conjugado fluorescente de anticuerpo anti-IgY de pollo, conjugado de etanercept y biotina, albúmina sérica bovina (BSA) como estabilizante 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 Free Anti-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 Free Anti-Etanercept** proporcionará resultados exactos y fiables siempre que se cumplan las siguientes condiciones.
 - **AFIAS Free Anti-Etanercept** solo se debe utilizar con el instrumento para pruebas AFIAS.
 - Se debe utilizar el anticoagulante recomendado.

Anticoagulante recomendado

K₂ EDTA, Na₂ 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 anticuerpo antifármaco, que es lo más frecuente si el epítipo queda enmascarado por determinados componentes desconocidos, por lo que no puede ser detectado ni capturado por los anticuerpos. La inestabilidad o degradación del anticuerpo antifármaco con el tiempo o la temperatura también puede causar resultados falsos negativos, ya que hace que los antígenos sean irreconocibles 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

Componente	Condiciones de almacenamiento		
	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-92

Componentes de **AFIAS Free Anti-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 Free Anti-Etanercept**.

Póngase en contacto con nuestro departamento de ventas para obtener más información.

- **Instrumento para pruebas AFIAS**

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

- **Boditech Anti-Etanercept Control**
- **Boditech Anti-Etanercept Calibrator**

REF FPRR019

REF FPRR040

REF FPRR020

REF FPRR038

REF CFPO-316

REF CFPO-339

OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El tipo de muestra utilizada en **AFIAS Free Anti-Etanercept** es **sangre total o suero humanos**.

- Si la muestra se conserva a temperatura ambiente, se recomienda analizarla en las 24 horas siguientes a su obtención.
- El suero se debe separar del coágulo mediante centrifugación en las 3 horas siguientes a la extracción de sangre.
- El suero se puede conservar durante una semana a 2-8 °C antes de ser analizado. Si el análisis se retrasa más de un semana, el suero se debe congelar a -20 °C.
- El suero almacenado congelado a -20 °C durante 3 meses no mostró 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.
- Obtención de una muestra de sangre total con una punta capilar C-tip.
 - ① Sostenga la punta capilar C-tip horizontalmente y toque la superficie de la sangre con el extremo agudo de la punta.
 - ② La acción capilar hará pasar automáticamente la muestra de sangre a la punta capilar C-tip y luego se detendrá.
 - ③ Limpie el exceso de sangre alrededor del extremo agudo.
 - ④ 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 Free Anti-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.
 - Asegúrese de que el número de lote del cartucho coincide con el del chip de ID.
 - 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.
 - Encienda el instrumento para pruebas AFIAS.
 - Vacíe la caja de puntas.
 - Inserte el chip de ID en el puerto para chips de identificación.
- ✳ **Consulte el manual de funcionamiento del instrumento para pruebas AFIAS para obtener información completa e instrucciones de funcionamiento.**

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 o control) utilizando una pipeta y transfíralos 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 o suero) en la pantalla.
- 5) Tome 100 µl de muestra utilizando una pipeta y transfíralos 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 anticuerpos anti-tanercept de la muestra de ensayo expresada en ng/ml.
- Intervalo de trabajo: 10–100 ng/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 Free Anti-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 3,06 ng/ml
 - Límite de detección 4,22 ng/ml
 - Límite de cuantificación 10,00 ng/ml
- **Efecto gancho a dosis altas**
No se produce efecto gancho a dosis altas con una concentración de anticuerpos anti-tanercept de hasta 30 000 ng/ml.
- **Especificidad analítica**
 - Reactividad cruzada
Los resultados de AFIAS Free Anti-Etanercept no revelaron ninguna reactividad cruzada significativa con estas biomoléculas.

Reactantes cruzados	Concentración
Infliximab	100 µg/ml
Adalimumab	100 µg/ml
Vedolizumab	100 µg/ml
Golimumab	100 µg/ml
Antiinfluximab	1000 ng/ml
Antiadalimumab	1000 ng/ml
Antivedolizumab	1000 ng/ml
Antigolimumab	1000 ng/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 Free Anti-Etanercept** no revelaron ninguna interferencia significativa con estas sustancias.

Sustancias interferentes	Concentración
Hemoglobina	1000 mg/dl
Bilirrubina	40 mg/dl
Triglicéridos	1500 mg/dl
Factor reumatoide	80 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 Free Anti-Etanercept** durante 20 días. Cada material estándar se probó 2 veces al día. Para cada prueba, se duplicó cada material.

Free Anti-Etanercept [ng/ml]	Repetibilidad		Precisión intralaboratorio		Precisión entre lotes	
	Media [ng/ml]	CV (%)	Media [ng/ml]	CV (%)	Media [ng/ml]	CV (%)
15	14,93	7,6	15,02	7,2	14,99	6,6
30	29,31	8,1	29,09	7,8	29,02	8,2
60	59,10	6,1	59,48	5,8	59,11	6,1

- Estudio multicéntrico

Reproducibilidad

Se probó un lote de **AFIAS Free Anti-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.

Antietanercept libre [ng/ml]	Reproducibilidad	
	Media [ng/ml]	CV (%)
15	14,99	7,0
30	28,83	7,9
60	59,90	5,6

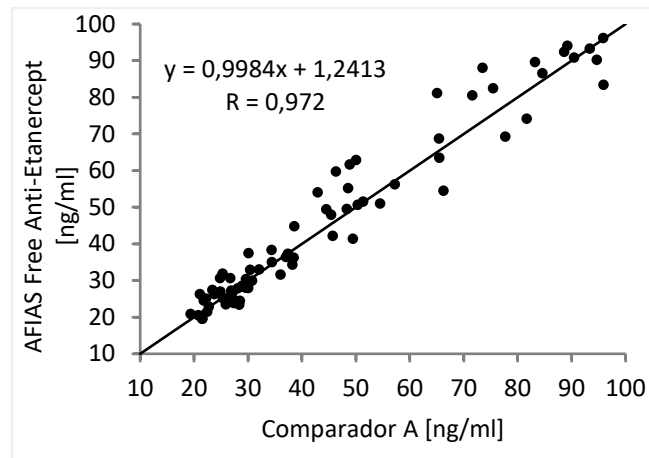
■ Exactitud

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

Free Anti-Etanercept [ng/ml]	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Media [ng/ml]	Recuperación (%)
22,1	21,57	22,79	22,49	22,28	100,6
35,8	35,13	35,42	36,71	35,76	99,8
57,5	56,50	57,65	57,04	57,06	99,2
71,4	71,30	71,12	71,00	71,14	99,6
86,7	86,76	86,88	86,87	86,84	100,2

■ Comparabilidad













La concentración de anticuerpos anti-tanercept de 74 muestras clínicas se cuantificó de manera independiente con **AFIAS Free Anti-Etanercept** y **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. Meenu Wadhwa, Chris Bird, Paula Dilger, Peter Rigsby et al. Establishment of the first WHO International Standard for etanercept, a TNF receptor II Fc fusion protein: Report of an international collaborative study. *J Immunol Methods*. 2017 Aug;447:14-22.
2. Bartelds GM, Kriekaert CL, Nurmohamed MT, et al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA* 2011;305:1460–8.
3. Wolbink GJ, Vis M, Lems W, et al. Development of anti infliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006;54:711–15.
4. A. Nassar-Sheikh Rashid, D. Schonenberg-Meinema, S. C. Bergkamp et al. Therapeutic drug monitoring of anti-TNF drugs: an overview of applicability in daily clinical practice in the era of treatment with biologics in juvenile idiopathic arthritis (JIA) *Pediatric Rheumatology* volume 19, Article number: 59 (2021)
5. Martin-Lopez M, Carmona L, Balsa A, Calvo-Alen J, Sanmarti R, Tornero J, et al. Serum drug levels of biologic agents in the management of rheumatoid arthritis and spondyloarthritis: a systematic review. *Rheumatol Int* 2018;38:975–83
6. Kriekaert CL, Nair SC, Nurmohamed MT, van Dongen CJ, Lems WF, Lafeber FP, et al. Personalised treatment using serum drug levels of adalimumab in patients with rheumatoid arthritis: an evaluation of costs and effects. *Ann Rheum Dis* 2015;74:361–8.
7. Mulleman D, Meric JC, Paintaud G, Ducourau E, Magdelaine Beuzelin C, Valat JP, et al. Infliximab concentration monitoring improves the control of disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R178.
8. JG Sanchez-Hernandez, N Rebollo, F Munoz et al. Therapeutic drug monitoring of tumour necrosis factor inhibitors in the management of chronic inflammatory diseases. *Annals of Clinical Biochemistry* 2019, Vol. 56(1) 28–41
9. Papamichael K, Cheifetz AS. Use of anti-TNF drug levels to optimise patient management. *Frontline Gastroenterology* 2016;0:1–12.

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