

MAGLUMI® FK 506 (CLIA)

USO PREVISTO

El kit es un inmunoensayo de quimioluminiscencia *in vitro* para la determinación cuantitativa de FK 506 en sangre humana mediante el uso del analizador para inmunoensayo de quimioluminiscencia completamente automático serie MAGLUMI (entre los que se encuentran Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus, MAGLUMI X8, MAGLUMI X3 y MAGLUMI X6) y el sistema integrado de la serie Biolumi (se incluyen Biolumi CX8).

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El tacrolimús (conocido también como FK 506 o fujimicina, nombres comerciales Prograf, Advagraf y Protopic) es un medicamento inmunosupresor usado principalmente después del trasplante de órganos alogénico para disminuir el riesgo de rechazo. El tacrolimús (FK 506) se ha comercializado como un agente inmunosupresor para prevenir o tratar el rechazo del injerto en pacientes con órganos trasplantados, o para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, como miastenia gravis, artritis y dermatitis atópica¹. El tacrolimús está disponible como una formulación de inyección, en cápsulas, como ungüento para una perfusión intravenosa continua, en dosificación oral o tópica, respectivamente. El tacrolimús es un antibiótico macrólido de 23 miembros (peso molecular de forma no hidratada: 806) producido por *Streptomyces tsukubaensis*, y es altamente lipofílico e insoluble en agua. Estas propiedades fisicoquímicas del tacrolimús causan una gran variación de la absorción oral y una metabolización rápida para la eliminación del organismo^{1,2}.

El tacrolimús es un macrólido inhibidor de calcineurina. En los linfocitos T, la activación del receptor de linfocitos T normalmente aumenta el calcio intracelular, que actúa a través de la calmodulina para activar la calcineurina. Luego, la calcineurina desfosforila el factor nuclear del factor de transcripción de los linfocitos T activados (NF-AT), que se desplaza hacia el núcleo del linfocito T y aumenta la actividad de los genes que codifican para la IL-2 y las citoquinas relacionadas. El tacrolimús impide la desfosforilación de NF-AT³. En los últimos años, el tacrolimús se ha usado para suprimir la inflamación asociada con la colitis ulcerosa (CU), una forma de enfermedad inflamatoria intestinal. Aunque se utiliza casi exclusivamente en casos de prueba, el tacrolimús ha demostrado ser muy eficaz en la supresión de brotes de CU^{4,5}. Como ungüento, el tacrolimús se utiliza en el tratamiento de eccema, específicamente en dermatitis atópica. Suprime la inflamación en forma similar a los esteroides, y es tan eficaz como un esteroide de potencia media⁶.

Los efectos secundarios pueden ser graves e incluyen infección, daño cardíaco, hipertensión, visión borrosa, problemas hepáticos y renales (nefrotoxicidad del tacrolimús), hipercalemia, hipomagnesemia, hiperglicemia, diabetes mellitus, picazón, daño pulmonar (el sirolimús también causa daño pulmonar), y diversos problemas neuropsiquiátricos, tales como pérdida del apetito, insomnio, síndrome de encefalopatía reversible posterior, confusión, debilidad, depresión, pesadillas vívidas, calambres, neuropatía, convulsiones, temblores y catatonía⁷⁻⁹. La supervisión terapéutica del fármaco es necesaria a fin de mantener una concentración sanguínea adecuada para evitar el rechazo del órgano trasplantado, pero lo suficientemente baja como para reducir al mínimo sus efectos secundarios tóxicos, tales como diabetes, neuropatía y nefrotoxicidad¹⁰.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El ensayo de FK 506 es un inmunoensayo competitivo de quimioluminiscencia.

La muestra (o calibrador o control, si corresponde), el búfer y las microperlas magnéticas recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-FK 506 se mezclan completamente y se incuban. A continuación, agregue el ABEI etiquetado con antígeno purificado FK 506 y forme complejos antígeno-anticuerpo. Después de la precipitación en un campo magnético, decante el sobrenadante y realice un ciclo de lavado. Posteriormente, se agregan los iniciadores 1 + 2 para iniciar una reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa se mide con un fotomultiplicador como unidades relativas de luz (RLU), que es inversamente proporcional a la concentración de FK 506 presente en la muestra (o calibrador o control, si corresponde).

COMPONENTES DEL KIT

Material proporcionado

Componentes	Contenido	100 pruebas (REF:130207003M)	50 pruebas (REF:130607003M)
Microperlas magnéticas	Microperlas magnéticas recubiertas de anticuerpos monoclonales anti-FK 506, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador bajo	Antígeno FK 506, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Calibrador alto	Antígeno FK 506, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 ml	2,0 ml
Desplazamiento del reactivo	0,25% Deoxicolato de sodio.	5,5 ml	3,0 ml
Búfer	Con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	6,5 ml	4,0 ml
Etiqueta de ABEI	Antígeno FK 506 purificado etiquetado con ABEI, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	6,5 ml	4,0 ml
Reactivo de pretratamiento de sangre	Laurilsulfato de sodio, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 ml	12,5 ml
Control de calidad interno	Antígeno FK 506, con contenido de BSA, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 ml	2,0 ml

Todos los reactivos se entregan listos para usarse.

Accesorios necesarios, pero no suministrados

Serie MAGLUMI y Biolumi:

Módulo de reacción	REF.: 630003
Iniciador 1 + 2	REF.: 130299004M, 130299027M
Concentrado para lavado	REF.:130299005M

Pida accesorios a Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) o a nuestros representantes autorizados.

CALIBRACIÓN

Trazabilidad: Este método se estandarizó de acuerdo con la sustancia de referencia interna de SNIBE.

La prueba de calibradores específicos de ensayo permite que los valores de RLU ajusten la curva principal asignada. Los resultados se determinan mediante una curva de calibración generada específicamente para el instrumento por calibración de dos puntos y una curva principal (10 calibraciones) proporcionada a través de un CHIP de identificación por radiofrecuencia (RFID) del reactivo.

Se recomienda recalibrar en las siguientes situaciones:

- Después de cada cambio de lotes (reactivo o iniciador 1 + 2).
- Cada semana o cada vez que se utiliza un nuevo kit de reactivos (recomendado).
- Después de que se requiere mantenimiento de los instrumentos.
- Si los controles están fuera del rango esperado.

CONTROL DE CALIDAD

Siga los reglamentos gubernamentales o los requisitos de acreditación concernientes a la frecuencia de control de calidad.

El control de calidad interno solo es aplicable con el sistema MAGLUMI y Biolumi. Para obtener instrucciones de uso y valor objetivo, consulte **Información de control de calidad de FK 506 (CLIA)**. El usuario necesita evaluar los resultados con sus propios estándares y conocimientos. Para información detallada sobre cómo ingresar los valores del control de calidad, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Para supervisar el rendimiento del sistema y las tendencias del cuadro, se necesitan materiales de control de calidad disponibles comercialmente. Trate todas las muestras de control de calidad del mismo modo que las muestras del paciente. Se logra un nivel satisfactorio de rendimiento cuando los valores de análisis obtenidos se encuentran dentro del rango de control aceptable para el sistema o dentro de su rango, según lo determinado por un esquema de control de calidad interna del laboratorio adecuado. Si los resultados del control de calidad no entran dentro de los valores esperados o dentro de los valores establecidos del laboratorio, no informe los resultados. Realice las siguientes acciones:

- Verifique que los materiales no hayan caducado.
- Verifique que se haya realizado el mantenimiento necesario.
- Verifique que el ensayo se haya realizado de acuerdo con las instrucciones de uso.
- Vuelva a ejecutar el ensayo con nuevas muestras de control de calidad.
- Si es necesario, comuníquese con sus distribuidores o los ejecutivos de soporte técnico locales para obtener asistencia.

PREPARACIÓN Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Material de la muestra: sangre. Extraiga la sangre asépticamente luego de seguir las precauciones universales para la venopunción.
- Extraiga 5 ml de sangre venosa con un tubo con EDTA. Agregue 100 µl de reactivo de pretratamiento de sangre y coloque todo junto en el mezclador durante dos minutos. (Si extrae 2 ml de sangre venosa en un tubo, agregue 40 µl de reactivo de pretratamiento de sangre al tubo, para mantener la proporción).
- No use muestras hemolizadas o con una marcada lipemia, ni tampoco muestras que contengan partículas o exhiban contaminación microbiana evidente. Inspeccione todas las muestras en busca de burbujas y elimínelas antes del análisis para obtener resultados óptimos.
- Todas las muestras (muestras de pacientes o controles) deben analizarse en un plazo de tres horas después de colocarlas en el sistema MAGLUMI y Biolumi. Consulte el servicio de SNIBE para obtener un análisis más detallado sobre las restricciones de almacenamiento de muestras.
- La muestra de sangre es estable hasta por tres días entre 2 y 8 °C.
- **No la congele.**
- Antes de realizar las pruebas en el analizador, mezcle la muestra de sangre completamente para asegurarse de que esté homogénea.
- Antes del envío, las muestras deben embalsarse y etiquetarse de conformidad con regulaciones estatales, federales e internacionales que abarquen el transporte de sustancias infecciosas y muestras clínicas.
- El volumen de muestra requerido para una sola determinación de FK 506 es de 40 µl.

ADVERTENCIA Y PRECAUCIONES PARA LOS USUARIOS

IVD

- Para usarse en diagnóstico *in vitro*.
- Siga el prospecto cuidadosamente. La confiabilidad de los resultados del ensayo no se puede garantizar si existe alguna desviación respecto de las instrucciones de este prospecto.

Precauciones de seguridad

- **PRECAUCIÓN:** Este producto requiere la manipulación de muestras humanas. Se recomienda que todos los materiales de origen humano se consideren potencialmente infecciosos y que se manipulen de conformidad con lo dispuesto en 29 CFR 1910.1030 Exposición ocupacional a patógenos transmitidos por la sangre. Se debe usar el nivel de bioseguridad 2 u otras prácticas de bioseguridad adecuadas para materiales que contienen agentes infecciosos o que se sospecha que los contienen.
- Todas las muestras, los reactivos biológicos y los materiales utilizados en el ensayo deben considerarse potencialmente capaces de transmitir agentes infecciosos. Por lo tanto, deben eliminarse de acuerdo con las prácticas de su institución. Deseche todos los materiales de manera segura y aceptable y en cumplimiento de los requisitos regulatorios imperantes.
- Este producto contiene azida de sodio. Los contenidos y recipientes deben desecharse en conformidad con todas las regulaciones locales, regionales y nacionales.
- Consulte las hojas de datos de seguridad que están disponibles a pedido.

Precauciones de manipulación

- No use kits de reactivos con la fecha de caducidad vencida.
- No intercambie los componentes de diferentes reactivos o lotes.
- Antes de cargar el kit de reactivos en el sistema por primera vez, el kit de reactivos se debe mezclar para volver a suspender las microperlas magnéticas que se asentaron durante el envío.
- Para obtener instrucciones sobre cómo mezclar microperlas magnéticas, consulte la sección Preparación del reactivo de este prospecto.
- Para evitar la contaminación, use guantes limpios cuando trabaje con un kit de reactivos y muestras.
- En el transcurso del tiempo, los líquidos residuales pueden secarse en la superficie septal. Estos son, generalmente, sales secas que no tienen ningún efecto sobre la eficacia del ensayo.
- Para obtener un análisis detallado de las precauciones de manipulación durante el funcionamiento del sistema, consulte la información de servicio de SNIBE.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Sellado: Almacenamiento a una temperatura de entre 2 y 8 °C hasta la fecha de caducidad.
- Apertura a entre 2 y 8 °C: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- En el sistema: La estabilidad mínima es de cuatro semanas.
- Para asegurar el mejor rendimiento del kit, se recomienda colocar los kits abiertos en el refrigerador después de la finalización de los trabajos de prueba intradía. Es posible seguir utilizando el kit después del período de apertura o en el sistema si los controles se encuentran dentro de los rangos esperados.
- Se debe mantener en posición vertical para el almacenamiento y para facilitar la posterior resuspensión adecuada de las microperlas magnéticas.
- Se debe mantener alejado de la luz solar.

PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Preparación del reactivo

- La resuspensión de las microperlas magnéticas se realiza de forma automática cuando el kit se carga correctamente, de modo que las microperlas magnéticas se vuelvan a suspender totalmente de forma homogénea antes del uso.
- Para asegurar el desempeño adecuado del test, siga estrictamente las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente. Cada parámetro del test está identificado mediante un CHIP RFID en el kit del reactivo. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

LIMITACIONES

- Se requiere una manipulación hábil y el cumplimiento estricto de las instrucciones para obtener resultados confiables. Las instrucciones de procedimiento deben seguirse exactamente, y es preciso ser cuidadoso para obtener resultados válidos. Cualquier modificación del procedimiento podría alterar los resultados.
- Para ensayos que emplean anticuerpos, existe la posibilidad de interferencia de anticuerpos heterófilos en la muestra del paciente. Los pacientes que han estado expuestos regularmente a animales o han recibido inmunoterapia pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA, por su sigla en inglés), lo cual puede ocasionar un falso aumento o una falsa disminución de los valores. Además, otros anticuerpos heterófilos, como anticuerpos humanos anticabra, también podrían estar presentes en las muestras de los pacientes.
- Los resultados del ensayo deben utilizarse en conjunción con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar en la toma de decisiones clínicas para pacientes individuales.

RESULTADOS

Cálculo de los resultados

El analizador calcula automáticamente la concentración de FK 506 de cada muestra mediante una curva de calibración que se genera con un procedimiento de curva principal de calibración de dos puntos. Los resultados se expresan en ng/ml. Para más información, consulte las Instrucciones de funcionamiento del analizador correspondiente.

Interpretación de los resultados

Los resultados del estudio en los centros clínicos con un grupo de 124 individuos fueron de 3,0 a 39,4 ng/ml. Pero no existe un rango terapéutico firme de tacrolímús en sangre. La complejidad del estado clínico, las diferencias individuales, la insensibilidad a los efectos nefrotóxicos e inmunosupresores del tacrolímús, la coadministración de otros inmunosupresores, el tipo de trasplante, el tiempo postrasplante y una serie de otros factores contribuyen a diferentes requisitos para lograr niveles óptimos del tacrolímús en sangre. Por lo tanto, los resultados del ensayo deben utilizarse en conjunción con otros datos clínicos y de laboratorio para ayudar en la toma de decisiones clínicas para pacientes individuales.

Los resultados pueden diferir entre laboratorios debido a variaciones en la población y el método de prueba. Si es necesario, cada laboratorio debe establecer su propio rango de referencia.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

La precisión del ensayo de FK 506 se determinó como se describe en el documento EP5-A2 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por su sigla en inglés). Se probaron dos controles con diferentes concentraciones de analito en duplicado en dos ejecuciones independientes por día durante 20 días de pruebas. Los resultados se resumen en la siguiente tabla:

Muestra	Media (ng/ml) (N=80)	Dentro de la ejecución		Entre ejecuciones		Total	
		SD (ng/ml)	% de CV	SD (ng/ml)	% de CV	SD (ng/ml)	% de CV
Control 1	20,324	0,854	4,20	0,442	2,17	0,962	4,73
Control 2	50,150	1,380	2,75	0,373	0,74	1,430	2,85

Límite de blanco (LoB)

El LoB del ensayo de FK 506 es de 0,1 ng/ml.

Límite de detección (LoD)

El LoD del ensayo de FK 506 es de 0,15 ng/ml.

Rango de medición

0,1 a 100 ng/ml (se define por el límite de blanco y el límite superior de la curva principal). Los valores que están por debajo del límite de blanco se observan como < 0,1 ng/ml. Los valores que están por encima del rango de medición se observan como > 100 ng/ml.

Comparación de métodos

Se realizaron pruebas a un total de 100 muestras en el rango de 0,59 a 38,74 ng/ml mediante el ensayo de FK 506 (y) y un inmunoensayo disponible comercialmente (x). Los datos de las regresiones lineales resultantes se resumen como: $y=0,985x+0,061$, $r^2=0,988$.

Especificidad analítica

La especificidad del ensayo se obtuvo agregando AM1 (M17) (500 ng/ml), AMIC (M18) (250 ng/ml), AM9 (M1) (250 ng/ml) y AM19 (M8) (250 ng/ml) y AM4N (M21) (250 ng/ml) a muestras de sangre con las concentraciones indicadas. No se encontraron interferencias.

Interferencia endógena

Las sustancias hasta las siguientes concentraciones no interfirieron con el ensayo:

- Bilirrubina 30 mg/dl
- Triglicérido 500 mg/dl
- Total de proteínas 12 g/dl

REFERENCIAS

1. Wallemacq P E, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects [J]. Clinical chemistry, 1993, 39(11): 2219-2228.
2. Iwasaki K. Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics [J]. Drug metabolism and pharmacokinetics, 2007, 22(5): 328-335.
3. Ganong W F, Ganong W. Review of medical physiology [M]. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1995.
4. Baumgart DC, Pintoffl JP, Sturm A, Wiedenmann B, Dignass AU (2006). "Tacrolimus is safe and effective in patients with severe steroid-refractory or steroid-dependent inflammatory bowel disease--a long-term follow-up". Am J Gastroenterol. 101 (5): 1048-1056.
5. Baumgart DC, Macdonald JK, Feagan B (2008). Baumgart DC, ed. "Tacrolimus (FK506) for induction of remission in refractory ulcerative colitis". Cochrane Database Syst Rev. 16 (3): CD007216.
6. Kang S, Lucky A W, Pariser D, et al. Long-term safety and efficacy of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in children[J]. Journal of the American Academy of Dermatology, 2001, 44(1): S58-S64.
7. Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M (2009). "Calcineurin inhibitor nephrotoxicity". Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 4 (2): 481-509.
8. Miwa Y, Isozaki T, Wakabayashi K, et al. (2008). "Tacrolimus-induced lung injury in a rheumatoid arthritis patient with interstitial pneumonitis". Mod Rheumatol. 18 (2): 208-11.
9. O'Donnell MM, Williams JP, Weinrieb R, Denysenko L (2007). "Catatonic mutism after liver transplant rapidly reversed with lorazepam". Gen Hosp Psychiatry. 29 (3): 280-1.
10. Wallemacq P, Reding R. FK506 (Tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical and analytical aspects. Clin Chem. 1993; 39:2219-2228.



Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd.
 No.23, Jinxiu East Road, Pingshan District, 518122 Shenzhen, P.R. China
 Tel.: +86-755-21536601 Fax: +86-755-28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europa)
 Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany
 Tel.: +49-40-2513175 Fax: +49-40-255726

EXPLICACIÓN DE SÍMBOLOS

	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante
	Límite de temperatura (Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C)		Fecha de caducidad
	Contiene suficiente para		Mantener alejado de la luz solar
	Este lado hacia arriba		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Componentes del kit
	Número de catálogo		Código de lote