

MyCare™ Oncology Busulfan Assay Kit



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60,
6827 AT Arnhem
The Netherlands

Saladax Biomedical Inc.
116 Research Dr.
Bethlehem, PA, 18015, EE. UU.

Atención al cliente
Teléfono: +1 610 419-6731
Fax: +1 484 547-0590
Correo electrónico: Techsupport@saladax.com
MyCareTests.com

 IVD	Dispositivo para diagnóstico <i>in vitro</i>	 LOT	Código de lote
	Consulte el Modo de empleo		Fabricante
	Limitación de temperatura		Usar antes de
 REF	Número de catálogo		Representante autorizado en la Unión Europea
 R1	Reactivo 1	 R2	Reactivo 2
 (N) x	Invertir lentamente los reactivos (R1 y R2) N veces antes de su uso		

Indicaciones de uso

MyCare Oncology Busulfan Assay Kit está indicado para la medición cuantitativa *in vitro* de busulfán en plasma humano heparinizado usando analizadores de química clínica automatizados. Las mediciones obtenidas pueden ayudar en la gestión de las personas a las que se le ha prescrito busulfán intravenoso.

Resumen y explicación del análisis

Busulfán (1,4-butanodiol dimetanosulfonato; Busulfex®) es un agente alquilante bifuncional indicado para su uso junto con ciclofosfamida (CY) como régimen de acondicionamiento antes del trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (HPCT) para la leucemia mieloide crónica (CML).¹ Busulfán también se utiliza para la mieloablación antes del trasplante de células madre hematopoyéticas en otras enfermedades malignas como la leucemia mieloide aguda, los síndromes mielodisplásicos, la leucemia linfática aguda y las enfermedades no malignas como los síndromes metabólicos, la hemoglobinopatía y la inmunodeficiencia, entre otras.²

Para la mieloablación antes del trasplante, el busulfán se administra habitualmente en forma de infusión durante dos horas, cada seis horas, por cuatro días, hasta un total de 16 dosis. En el prospecto de Busulfex podemos leer que, para el primer ciclo del tratamiento, se recomienda realizar la monitorización del medicamento con el objetivo de ajustar la dosis de busulfán.¹ El objetivo terapéutico se sitúa entre 56 y 86 mg por hora y litro (AUC, 900-1350 µM min) para pacientes pediátricos.¹ Para calcular el AUC, se toman las muestras de sangre al final de la infusión, a las cuatro horas de iniciar la infusión, y antes de la siguiente dosis (concentración valle). Debe considerarse la monitorización del busulfán para minimizar el síndrome de obstrucción sinusoidal, disminuir los índices de rechazo del injerto y reducir los índices de recaída.³

MyCare Oncology Busulfan Assay Kit (patente estadounidense N.º 7,893,220) consiste en un inmunoanálisis homogéneo de aglutinación de nanopartículas con dos reactivos. Se utiliza para la detección de busulfán en el plasma humano. Se basa en el principio de medir cambios en la luz dispersa o absorbancia que resulta del paso de luz a través de las partículas más o menos aglutinadas. Esta aglutinación se mide en longitudes de onda entre 400 y 650 nm mediante analizadores de química clínica automatizados. Se utilizan conjugados farmacéuticos multivalentes como complemento aglutinador de anticuerpos selectivos para busulfán que se adhieren covalentemente a la superficie de las nanopartículas. Cuando no hay busulfán libre, esta reacción crea grandes aglutinaciones, que producen una solución que dispersa la luz incidente y da lugar a un aumento en la absorción observada de la solución. Cuando se introduce una muestra que contiene busulfán, la reacción de aglutinación se inhibe parcialmente. El anticuerpo ligado al fármaco de la muestra ya no sirve para fomentar la aglomeración de nanopartículas, lo cual produce una menor dispersión de la luz incidente y una mejor absorción observada de la solución. Por lo tanto, se obtiene una curva clásica de inhibición con respecto a la concentración de busulfán en la que la máxima absorción ocurre con niveles inferiores

del medicamento y la absorción mínima ocurre con niveles elevados de este. La monitorización de los cambios en luz dispersada o absorbancia como función de los niveles del medicamento produce una curva que depende de la concentración.⁴⁻⁵

Reactivos

Este kit contiene suficiente reactivo para 100 análisis.*

MyCare Oncology Busulfan Assay Kit REF BSF-RGT	Cantidad x volumen
Reactivo 1 R1 Tampón de reacción que contiene conjugado de fármacos y proteína en una solución tamponada	1 x 9,5 ml
Reactivo 2 R2 Reactivo de nanopartículas que contiene anticuerpo monoclonal ligado a nanopartículas en una solución tamponada	1 x 9,5 ml

*depende del analizador

Advertencias y precauciones

- Para uso en diagnóstico *in vitro* solamente.
- Observar las precauciones normales requeridas para la manipulación de reactivos en el laboratorio.
- Siga las instrucciones de manipulación de reactivos. La mezcla inapropiada de reactivos puede afectar al rendimiento del ensayo.
- Los materiales de origen humano han sido sometidos a análisis de detección del VIH1, VIH2, Hepatitis B y Hepatitis C aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) de EE. UU. Los hallazgos fueron negativos. No obstante, dado que ningún método de prueba puede descartar todo riesgo potencial de infección con absoluta certeza, el material deberá manipularse con el mismo cuidado que una muestra de paciente. En caso de exposición, deberán observarse las recomendaciones de las autoridades sanitarias competentes.
- Todos los componentes del kit de análisis de busulfán contienen menos de un 0,1 % de azida sódica. Evitar el contacto con la piel y las membranas mucosas. Enjuagar las áreas afectadas con grandes cantidades de agua. Solicitar atención médica inmediata en caso de que los reactivos sean ingeridos o entren en contacto con los ojos. En el momento de eliminar dichos reactivos, diluir siempre con grandes cantidades de agua para prevenir la acumulación de azida.

Manipulación de reactivos

Los reactivos del análisis de busulfán están listos para su uso.

Antes de utilizar los reactivos, invertir lentamente cinco veces, evitando la formación de burbujas.

Mezcle los reactivos antes de verterlos en cualquier portarreactivos/botella/petaca específico del analizador. Antes de colocar las botellas/petacas específicas en el analizador, homogenice los reactivos invirtiéndolos suavemente cinco veces, evitando la formación de burbujas.

Conservación y estabilidad

Los reactivos deben conservarse bajo refrigeración entre 2 y 8 °C. No congele los reactivos.

Siempre que se almacenen y manipulen de la manera indicada y sin abrir, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de vencimiento indicada en la etiqueta. Una inadecuada conservación de los reactivos puede afectar al rendimiento del análisis.

Obtención y manipulación de las muestras

Se requiere plasma heparinizado con sodio.

Obtenga las muestras directamente después de haber terminado la infusión, a las 4 horas de iniciar la infusión, y directamente antes de la siguiente infusión.

El busulfán es inestable. Mantenga las muestras de sangre total sobre un lecho de hielo o refrigerada a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Centrifugue la sangre total y procésela a plasma en las dos horas posteriores a su recogida. El plasma puede mantenerse refrigerado a una temperatura de entre 2 y 8 °C durante un máximo de 24 horas antes del análisis.

Para un almacenamiento más prolongado del plasma, congele la muestra a -80 °C durante un máximo de 12 meses y a -20 °C durante un máximo de 3 meses. No congele las muestras de sangre total.

Asegúrese de que la muestra de plasma esté descongelada y bien mezclada antes de la medición.

Procedimiento

Análisis

Para realizar el análisis, consulte la ficha de aplicación del instrumento específico y el correspondiente manual del usuario del analizador.

Instrumentos

Es posible que haya que transferir los reactivos a contenedores de reactivos específicos del analizador (consulte Manipulación de reactivos).

Materiales proporcionados:

REF BSF-RGT – MyCare Oncology Busulfan Assay Kit

Materiales necesarios - Se proporcionan por separado:

REF BSF-CAL – MyCare Oncology Busulfan Calibrator Kit

REF BSF-CON – MyCare Oncology Busulfan Control Kit

Procedimiento de dilución de la muestra

Las muestras que contienen busulfán superior a 2000 ng/ml pueden diluirse automática o manualmente 1:2 (una parte de muestra más dos partes de agua) para lograr un margen superior de 6000 ng/ml.

Calibración

Para llevar a cabo una calibración, consulte la ficha de aplicación del instrumento específico y el correspondiente manual del usuario del analizador.

Realice una calibración completa con los seis calibradores de Busulfan Calibrator Kit. Verifique la calibración comprobando los controles bajo, medio y alto de Busulfan Control Kit.

Frecuencia de calibración

Se recomienda calibrar:

- después de cambiar el lote del kit de reactivos,
- después de realizar el mantenimiento mensual del instrumento,
- según corresponda en base a los procedimientos de control de calidad.

Control de calidad

Cada laboratorio debe establecer sus propios procedimientos de CC para el análisis de busulfán. Todos los controles de calidad y análisis deberán realizarse de acuerdo con las normativas locales, estatales o nacionales, así como con los requisitos de acreditación. La buena práctica de laboratorio sugiere que se prueben por lo menos dos concentraciones de control de calidad cada día que se analicen muestras de paciente y cada vez que se lleve a cabo una calibración. Reevaluar las dianas y márgenes de los controles después de un cambio de lote de reactivos (kit) o controles.

Resultados

Los resultados de MyCare Oncology Busulfan Assay Kit se utilizan para calcular un AUC o C_{ss} (concentración en estado estable).

$$C_{ss} = \frac{AUC}{frecuencia\ de\ dosis}$$

Los resultados se indican en ng/ml. El factor de conversión para μM es $0,0041 \times ng/ml = 1 \mu mol/l$.

Limitaciones del procedimiento

De la misma forma que con todas las determinaciones de analitos, MyCare Oncology Busulfan Assay Kit debe usarse junto con la información procedente de la evaluación clínica y otras técnicas de diagnóstico.

El análisis de busulfán se ha validado para el plasma heparinizado con sodio. No utilice tubos de separadores de plasma.

No utilice muestras de aptitud o de control de calidad externo que contengan disolventes orgánicos.

Como con cualquier análisis que utilice anticuerpos de ratón, existe la posibilidad de interferencia con anticuerpos humanos antirratón (HAMA) presentes en la muestra. Las muestras que contienen esa clase de anticuerpos pueden producir resultados erróneos para busulfán que son incongruentes con el perfil clínico del paciente.

Citalopram en concentraciones de 5500, 3700 y 1900 ng/ml analizado con 325 ng/ml de busulfán elevó el resultado de busulfán un 48 %, 29 % y 17 % respectivamente. Las concentraciones terapéuticas elevadas de citalopram podrían ocasionar un sesgo en los resultados.

Valores esperados

La monitorización de busulfán permite personalizar la dosis del paciente, con un objetivo de exposición al fármaco, definido por medio del parámetro cinético AUC (área bajo la curva), que es la concentración plasmática frente al tiempo, o la concentración en estado estable. Las concentraciones de busulfán se utilizan para calcular la exposición del paciente al busulfán usando el AUC.³ Las concentraciones de busulfán no deben ser el único medio de modulación de la farmacoterapia. El análisis debe usarse en forma conjunta con información procedente de evaluaciones clínicas y otras técnicas de diagnóstico.

AUC se puede calcular utilizando una variedad de métodos como el análisis compartimental usando el modelo de trapecoidal y farmacocinética (PK).²

Datos de rendimiento específicos

A continuación se indican los datos típicos de rendimiento del análisis de busulfán. Los resultados obtenidos en laboratorios particulares pueden diferir de estos datos.

Precisión

Se verificaron la precisión intralaboratorio y la repetibilidad del margen de medición siguiendo la directiva CLSI EP05-A3.⁶ Se analizaron tres controles Busulfan Control Kit y cuatro grupos de plasma humano normal enriquecido con busulfán (muestras enriquecidas 1, 2, 3, 4). Las muestras se analizaron dos veces al día durante veinte días utilizando tres lotes de reactivos y dos analizadores.

Los datos que aparecen a continuación son representativos de un lote de reactivos utilizados en un analizador.

Tipo de muestra		Valor asignado (ng/ml)	N	Media (ng/ml)	Repetibilidad	Intralaboratorio
					%VK	%VK
Controles	Bajo	225	80	250	4,6 %	6,1 %
	Medio	450	80	461	3,1 %	3,9 %
	Alto	900	80	910	1,8 %	2,8 %
Plasma	Muestra enriquecida 1	325	80	328	4,7 %	5,7 %
	Muestra enriquecida 2	600	80	615	4,0 %	4,8 %
	Muestra enriquecida 3	1100	80	1124	2,1 %	2,9 %
	Muestra enriquecida 4	1500	80	1531	2,6 %	3,1 %

Límite de cuantificación (LdC) y Límite de detección (LdD)

Los límites mínimos de cuantificación y detección se establecieron utilizando la directiva CLSI EP17-A2.⁷

LdC

El LdC se determinó con un objetivo de exactitud en el LdC ≤ 35 % del error total (modelo Westgard). El LdC del análisis de busulfán es de 187 ng/ml.

LdD

El LdD es la cantidad más baja de analito que se puede detectar de forma fiable (≥ 95 % de los resultados superiores al límite del blanco). El LdD del análisis de busulfán es de 96 ng/ml.

Rango de medición

El rango de medición del análisis de busulfán es de 187 a 2000 ng/ml.

Especificidad

Metabolismo

Busulfán se metaboliza predominantemente por conjugación con el glutatión, tanto de forma espontánea como por catálisis de glutatión S-transferasa (GST). Este conjugado se somete a un extenso metabolismo oxidativo en el hígado.¹ Los metabolitos recogidos en plasma y orina son, entre otros, tetrahidrotiofeno (THT), THT-1-óxido, sulfolano y 3-hidroxisulfolano.^{8,9}

Se analizó la especificidad para los siguientes metabolitos y reactivos cruzados en ausencia y en presencia de busulfán a 325 y a 1500 ng/ml.

Compuesto	Analizado a (ng/ml)	% de sesgo
THT	100	2 %
THT-1-óxido	500	3 %
Sulfolano	800	3 %
3-hidroxisulfolano	500	3 %

No se observó sesgo significativo en las muestras con los siguientes interferentes endógenos en los niveles dados.

Interferente	Nivel	
Factor reumatoide	508 IU/ml	
Albúmina de suero humano	10,7 g/dl	107 g/l
Inmunoglobulina humana G	11,7 g/dl	117 g/l
Anticuerpos humanos antirratón	100 ng/ml	
Interferencia icterica	44 mg/dl	752 µmol/l
Interferencia lipémica	711 mg/dl	8 mmol/l
Hemolisado	1,025 mg/dl	
Ácido úrico	1,5 mg/dl	89 mmol/l

Reactividad cruzada

Los siguientes compuestos no interfirieron con el análisis de busulfán: el sesgo de análisis fue <23%.

Compuesto	Analizado a (ng/ml)	Compuesto	Analizado a (ng/ml)
Paracetamol	200 000	Ácido acetil salicílico	500 000
Aciclovir	66 000	Albuterol	1000
Alendronato de sodio	1000	Alopurinol	60 000
Alfa-tocoferol	129 300	Alprazolam	2000
Amantadina	10 000	Sulfato de amikacina	144 000
Amisulprida	1200	Amitriptilina	1000
Besilato de amlodipino	100	Amoxicilina	80 000
S (+)-anfetamina	1000	Azatioprina	2600
Baclofeno	3000	Benzatropina	600
Biotina	3600	Bupropión	3000
Buspirona	20	Cafeína	108 000
Carbonato cálcico	315 000	Carbamazepina	45 000
Cefalexina	200 000	Ceftriaxona	84 000
Celecoxib	10 000	Cetirizina diclorhidrato	4400
Clordiazepóxido	6900	8-cloroteofilina	3000
Clorpromazina HCl	3300	Cimetidina	30 000
Ciprofloxacino	12 000	Clindamicina	51 000
Clofarabina	13 200	Clonazepam	300
Clotrimazol	2400	Codeína	2000
Cortisol	300	(-)-cotinina	2000
Ciclofosfamida	549 000	Ciclosporina	1800
Deferasirox	75 000	Desloratadina	600
Dextrometorfano	1000	Diazepam	30 000
Difenilhidramina HCl	6000	Ácido docosahexaenoico etil éster	150 000

Compuesto	Analizado a (ng/ml)	Compuesto	Analizado a (ng/ml)
Doxiciclina HCl	35 000	Duloxetina	200
Eritromicina	138 000	Estradiol	1,2
Etanol	6 000 000	Etopósido	42 000
Fentanilo	600	Fluconazol	25 500
Fludarabina	5200	Fluoxetina HCl	1000
Flurazepam	500	Fluticasona propionato	10
Ácido fólico	15	Gemcitabina	16 000
Gentamicina sulfato	30 000	Ibuprofeno	500 000
Indinavir sulfato	400	Itraconazol	6000
Kanamicina	90 000	Lamivudina	10 500
Ácido L-ascórbico	60 000	Levetiracetam	180 000
Lidocaína	15 000	Lorazepam	1000
Meclizina	500	Melfalán	4500
Metotrexato	1 360 000	Metilprednisolona	7900
Metronidazol	123 000	Morfina	7800
Naproxeno sódico	500 000	Nicotina	1000
Ácido nicotínico	54 000	Nordazepam	5000
Omeprazol	8400	Ondansetrón	350
Oxazepam	5000	Oxicodona	500
Ácido pantoténico	1800	Penicilina G	30 000
Penicilina V	42 000	Fenobarbital	690 000
Fenitoína	60 000	Posaconazol	2100
AEDT potásico	1000	Prednisolona	3000
Pregabalina	22 500	Procainamida	48 000

Compuesto	Analizado a (ng/ml)	Compuesto	Analizado a (ng/ml)
Proclorperazina	3500	Prometazina	1200
R,R (-)-pseudoefedrina	10 000	S,S (+)-pseudoefedrina	10 000
Piridoxina HCl	100	Quinidina	15 000
Ranitidina	10 500	Retinol	4000
Riboflavina	200	Rifampicina	48 000
Ácido salicílico	500 000	Fluoruro sódico	900
Heparina de sodio	50 U/ml	Sulfato de estreptomina	258 000
Sulfametoxazol	400 000	Temazepam	5000
Tiamina HCl	500	Tiotepa	30 000

Compuesto	Analizado a (ng/ml)	Compuesto	Analizado a (ng/ml)
Tobramicina	33 000	Topiramato	30 000
Trazodona HCl	10 000	Triazolam	40
Trimetoprima	42 000	Ácido valproico	500 000
Vancomicina	120 000	Vitamina B12	1
Vitamina D2	1200	Vitamina K1	10
Voriconazol	18 000	Vorinostat	2800
Warfarina	75 000	Zolpidem hemitartrato	5000
Zonisamida	120 000	Zopiclona	400

Recuperación

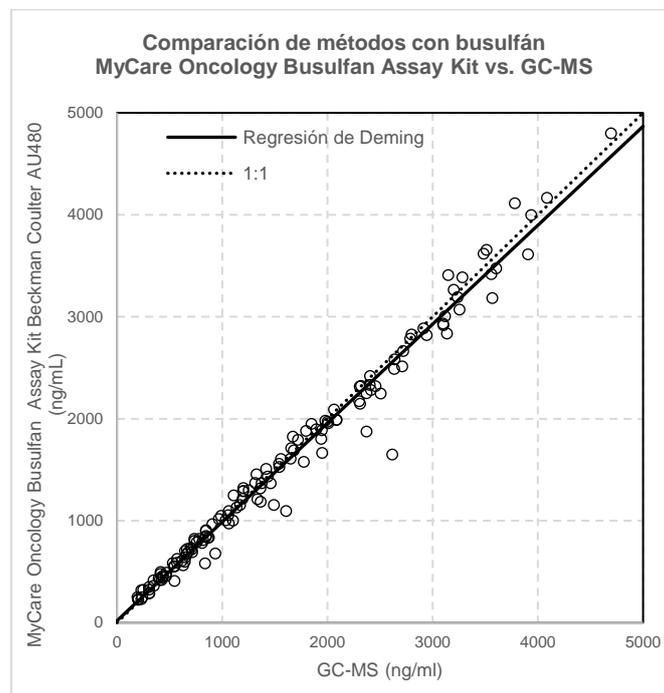
La recuperación de busulfán se evaluó en los 3 controles y grupos clínicos medidos para el estudio de rendimiento de precisión EP05-A3. El porcentaje de recuperación se determinó dividiendo la concentración media de cada muestra entre la concentración esperada de busulfán. Se obtuvo una desviación media de recuperación del -1 % al 4 %.

Linealidad

La linealidad del análisis de busulfán se verificó siguiendo la directiva CLSI EP6-A.⁶ Se prepararon once muestras de linealidad que abarcan el rango de medición en plasma humano a las que se añadió busulfán. La regresión lineal obtuvo una pendiente de 1000 (CI 95 %: 0,988 – 1,013) y una intersección de 29 (CI 95 %: 14 - 45) con R = 0,999. La desviación de la linealidad (n=5) fue -12 %. El análisis fue lineal en el rango de medición de 187 a 2000 ng/ml.

Comparación de métodos

Los resultados del análisis de busulfán se compararon con un método GC-MS validado, usando muestras de pacientes que toman busulfán, siguiendo la directiva CLSI EP09c.¹⁰ Se realizó un análisis de regresión de Deming con 208 muestras de pacientes de busulfán. Se muestran los resultados para un lote.



Estadística de regresión Busulfan Assay Kit vs. GC-MS	
Pendiente	0,97
Ordenada en el origen	18
Coefficiente de correlación (R)	0,9917
N	208
Margen de concentración (GC-MS)	171 – 4,696

Referencias del prospecto:

1. Otsuka America Pharmaceutical I. Busulfex Package Insert.
2. Bartelink IH, Lalmohamed A, van Reij EML, et al. Association of busulfan exposure with survival and toxicity after haemopoietic cell transplantation in children and young adults: a multicentre, retrospective cohort analysis. *Lancet Haematol.* 2016;3(11):e526-e536.
3. Palmer J, McCune JS, Perales MA, et al. Personalizing Busulfan-Based Conditioning: Considerations from the American Society for Blood and Marrow Transplantation Practice Guidelines Committee. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(11):1915-1925.
4. McNally AJ, Goc-Szcutnicka K, Li Z, Pilcher I, Polakowski S, Salamone SJ. An online immunoassay for LSD: comparison with GC-MS and the Abuscreen RIA. *Journal of analytical toxicology.* 1996;20(6):404-408.
5. Li Z, Goc-Szcutnicka K, McNally AJ, et al. New synthesis and characterization of (+)-lysergic acid diethylamide (LSD) derivatives and the development of a microparticle-based immunoassay for the detection of LSD and its metabolites. *Bioconjugate chemistry.* 1997;8(6):896-905.
6. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition. Documento del CLSI EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
7. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
8. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 11th ed: Biomedical Publications; 2017.
9. Myers AL, Kawedia JD, Champlin RE, et al. Clarifying busulfan metabolism and drug interactions to support new therapeutic drug monitoring strategies: a comprehensive review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2017;13(9):901-923.
10. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. 3rd ed. CLSI guideline EP09c. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2018.

© 2023, Saladax Biomedical, Inc.

MyCare™ es una marca comercial de Saladax Biomedical, Inc. Todos los demás nombres de productos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.