



ARK™ Topiramate Assay

Lea atentamente el presente folleto ilustrativo de ARK Diagnostics, Inc. antes de usar el Ensayo de topiramato de ARK. Aténgase a las instrucciones que figuran en este folleto. No se garantizará la fiabilidad de los resultados del ensayo en caso de que no se observen las instrucciones de este folleto ilustrativo.

Notificar cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto al fabricante y a la autoridad competente correspondiente, según proceda. Existe un resumen de seguridad y rendimiento disponible a través de EUDAMED (base de datos europea sobre productos sanitarios), SRN: US-MF-000023925.

Atención al cliente



48089 Fremont Blvd
 Fremont, CA 94538 EE. UU.
 Tel.: 1-877-869-2320
 Fax: 1-510-270-6298
 customersupport@ark-tdm.com
 www.ark-tdm.com



EC REP

Emergo Europe
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands

Leyenda de los símbolos empleados

	Código del lote	 YYYY-MM-DD	Fecha de caducidad
	Nº de catálogo		Fabricante
	Representante autorizado		Marca CE con el número de organismo notificado
	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>		Límite de temperatura
	Consultar las instrucciones para el uso		Reactivo 1/ Reactivo 2
Rx Only	Para uso exclusivo bajo prescripción médica		

1 Nombre

ARK™ Topiramate Assay

2 Uso previsto

El Ensayo de topiramato de ARK es un inmunoensayo enzimático homogéneo concebido para la determinación cuantitativa del topiramato en suero o plasma humanos en analizadores químicos clínicos automatizados. Los resultados obtenidos se aplican en el diagnóstico y tratamiento de la sobredosis de topiramato y en la monitorización de los niveles de topiramato con la finalidad de optimizar la terapia.

3 Resumen y explicación de la prueba

El topiramato (sulfamato de 2,3:4,5-bis-O-isopropilideno-β-D-fructopiranososa) es un fármaco anticonvulsivo homologado para ser empleado en el tratamiento de la epilepsia y se prescribe a menudo como monoterapia o como elemento de una terapia farmacéutica múltiple de la epilepsia¹.

4 Principios del procedimiento

El Ensayo de topiramato ARK es un inmunoensayo homogéneo basado en la competición entre el fármaco presente en la muestra y el epítopo de topiramato marcado con la enzima glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH) a la hora de unirse al reactivo con anticuerpo. Cuando el último se une al anticuerpo, la actividad enzimática disminuye. En presencia de fármaco de la muestra, la actividad enzimática aumenta y está directamente relacionada con la concentración del fármaco. La enzima activa convierte la coenzima nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en NADH cuyo nivel se mide mediante espectrofotometría al estar en relación con la variación de absorbancia. La G6PDH sérica endógena no interfiere en los resultados porque la coenzima NAD funciona sólo con la enzima bacteriana usada en el ensayo.

5 Reactivos

REF	Descripción del producto	Cantidad/Volumen
5015-0001-00	ARK™ Topiramate Assay Reactivo R1 – Anticuerpo/Sustrato Anticuerpos* anti topiramato policlonales de conejo, glucosa-6-fosfato, nicotinamida adenina dinucleotide, albumina de suero bovino, conservantes y estabilizantes	1 X 28 ml
	Reactivo R2 – Enzima Epítopo de topiramato marcado con G6PDH	1 X 14 ml

REF	Descripción del producto	Cantidad/Volumen
	bacteriana, tampón, albumina de suero bovino, conservantes y estabilizantes	

*Se producen selectivamente anticuerpos contra de un determinante antigénico del topiramato.

Manipulación y almacenamiento de reactivo

Los reactivos del Ensayo de topiramato ARK se suministran en forma líquida, listos para el uso y pueden ser usados justo después de sacarlos del frigorífico. Cuando no se están usando, los reactivos se deben almacenar a una temperatura entre 2°C y 8°C (36-46°F) de pie y con el tapón de rosca bien cerrado. Si se han almacenado correctamente a las condiciones indicadas, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No congelar los reactivos. Evitar la exposición prolongada a temperaturas superiores a los 32°C (90°F). **Un almacenamiento incorrecto de los reactivos puede comprometer el resultado del ensayo.**

6 Advertencias y precauciones

- Para **diagnóstico in vitro**, uso profesional en laboratorio.
- Para uso exclusivo bajo prescripción médica. *Atención: La Ley Federal de EE.UU. autoriza la venta de este sistema solo por parte de un médico autorizado o por orden de él.*
- Los reactivos **R1** y **R2** se suministran juntos en un kit y no se deberían intercambiar con reactivos que lleven otro número de lote.

7 Recogida de muestras y preparación para el análisis

- Cada laboratorio es responsable de suministrar una muestra válida para el análisis de acuerdo con sus procedimientos de calidad.
- Se precisan muestras de suero o de plasma. Para garantizar coherencia, es recomendable usar la misma matriz de muestra en un mismo paciente. Hay que tomar una muestra en estado estable (nivel mínimo, antes de la administración) para garantizar una correcta monitorización terapéutica del topiramato. Anotar el tiempo transcurrido del momento de recogida de la sangre desde la última administración.
- No usar sangre entera. Con este ensayo es posible emplear los siguientes anticoagulantes.
 - Heparina de sodio
 - Heparina de litio
 - EDTA potásico
- Recoger la sangre con tubos adecuados para el uso de la monitorización terapéutica del fármaco (TDM).

- Seguir las recomendaciones del fabricante del tubo de recogida para la recogida, el procesamiento y la centrifugación.
- El documento GP44-A4 del CLSI describe los procedimientos para minimizar los artefactos debidos a la recogida y manipulación de muestras para pruebas de laboratorio usuales.²
- No provocar la formación de espuma y evitar los congelamientos y descongelamientos reiterados con el fin de conservar la integridad de la muestra desde el momento de su recogida hasta el momento en el que se ejecuta el ensayo.
- La presencia de fibrina, de hematíes o de otra materia particulada puede alterar el resultado. Asegurarse de que la centrifugación sea correcta.
- La presencia de burbujas o espuma en las muestras puede dar problemas de cantidad demasiado baja y llevar a resultados erróneamente bajos.
- Cada laboratorio debe consultar la bibliografía disponible y los datos internos relativos a la estabilidad de las muestras.
- Según los estudios realizados por ARK Diagnostics, las muestras clarificadas pueden almacenarse hasta una semana a una temperatura comprendida entre 2 y 8°C. Si la prueba se va a retrasar más de una semana, las muestras deberán almacenarse congeladas ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) por un tiempo máximo de cuatro semanas antes de ser analizadas. Se recomienda limitar el número de congelaciones y descongelaciones.
- **Manipular todas las muestras procedentes de pacientes como potencialmente infecciosas.**

8 Procedimiento

Material suministrado

Ensayo de topiramato ARK – [REF] 5015-0001-00

Material requerido (se suministra por separado)

Calibrador de topiramato ARK – [REF] 5015-0002-00

Controles de calidad – Control de topiramato ARK – [REF] 5015-0003-00

Instrumentación

Antes del uso, puede ser necesario transferir los reactivos [R1] y [R2] a recipientes específicos para el analizador en cuestión. Evitar la contaminación cruzada de [R1] y [R2].

Existen numerosos analizadores químico-clínicos automatizados con determinación fotométrica de la tasa a 340 nm que son adecuados. Consultar la hoja de aplicación específica del analizador para programar el Ensayo de topiramato de ARK disponible por parte de su

distribuidor o del servicio de atención al cliente de ARK. Las Hojas de Protocolo de Aplicación que han sido categorizadas CLIA o llevan el distintivo CE han sido verificadas por el fabricante. Es responsabilidad del laboratorio realizar toda la validación apropiada para el uso del ensayo con otros ajustes o analizadores.

Para el mantenimiento cotidiano correcto, consultar el manual de instrucciones del instrumento.

Secuencia del ensayo

Para ejecutar o calibrar correctamente el ensayo, véase el manual específico de la instrumentación.

Calibración

Ejecutar una calibración completa (de 6 puntos) usando los Calibradores de topiramato ARK A, B, C, D, E, y F; probar los calibradores por duplicado. Con cada nuevo número de lote del kit de reactivos es preciso ejecutar una nueva calibración. Verificar la curva de calibración con controles de calidad de al menos dos niveles en conformidad con el plan de aseguramiento de calidad fijado en el laboratorio. El Calibrador A es el blanco de la calibración.

Cuándo repetir la calibración

- Siempre que se vayan a utilizar reactivos de un nuevo lote
- Siempre que resulte necesario en base a los resultados del control de calidad
- Siempre que lo prevean los protocolos estándar del laboratorio

Control de calidad (QC)

Los laboratorios deben establecer procedimientos QC para el Ensayo de topiramato ARK. Todos los controles de calidad y las pruebas se deben ejecutar en cumplimiento de las normativas locales, regionales o nacionales y de los requisitos de acreditación.

La buena práctica de laboratorio prevé que sean testados al menos dos niveles (puntos de decisión médica alto y bajo) del control de calidad todos los días, que se realice el ensayo de las muestras del paciente y que se efectúe cada vez una calibración. Monitorizar constantemente si los valores de control presentan alguna tendencia o desviación. Si se detecta alguna tendencia o desviación o si el control no recupera dentro del margen especificado, verificar todos los parámetros operativos siguiendo los procedimientos de calidad clínicos y de laboratorio. Para más información, contactar a nuestro servicio de atención al cliente.

Protocolo de dilución manual

Para calcular los niveles de fármaco en las muestras que superen el límite de 54 µg/ml, diluir la muestra a mano con el calibrador cero (CAL A). Multiplicar los resultados del ensayo por el factor de dilución.

$$\text{Factor de dilución manual} = \frac{(\text{volumen muestra} + \text{volumen CAL A})}{\text{Volumen muestra}}$$

9 Resultados

La unidad para expresar los resultados es µg/ml o µmol/l. Para convertir de µg/ml a µmol/l la concentraciones de topiramato, multiplicar por 2,95 el valor en µg/ml. El valor de topiramato de este ensayo debería ser usado en relación con otras informaciones clínicas. Si el resultado es algún código de error, consultar el manual de instrucciones del instrumento para interpretarlo correctamente.

10 Limitaciones del procedimiento

Este ensayo está concebido exclusivamente para su uso con suero o plasma; atenerse al los Apartados **"Recogida de la muestra y preparación para el análisis"** y **"Características de rendimiento específicas"**.

11 Valores previstos

Aún no se ha definido exactamente ningún margen terapéutico para topiramato. Existe una correlación inconsistente entre los niveles de topiramato circulante y la toxicidad, los efectos adversos o la eficacia clínica.³ Por lo tanto, está justificado monitorizar la concentración de topiramato en los pacientes.

Han sido propuestos diversos rangos de referencia para el control de las convulsiones, que incluyen concentraciones de muestra de 5 a 20 µg/mL (15 a 60 µmol/L)³⁻⁶ y de 2 a 10 µg/mL⁷ en neuropsicofarmacoterapia. Se recomienda la monitorización del topiramato durante y después del embarazo.⁸

El valor de concentración de topiramato debería ser usado en relación con la información arrojada por las evaluaciones clínicas y otros procedimientos diagnósticos. Es tarea de los médicos monitorizar cuidadosamente los pacientes durante la terapia y el ajuste de la dosis. Puede haber grandes variaciones en la farmacocinética, especialmente debido a la edad, a la comedición o en caso de que la función renal esté comprometida. Es necesario tomar diferentes muestras en el tiempo para determinar las concentraciones de estado estable de cada paciente.

12 Características de rendimiento específicas

Los datos dependen del rendimiento de los analizadores clínico-químicos automáticos. Cada laboratorio es responsable de verificar el rendimiento usando los parámetros establecidos para sus analizadores. Las características de rendimiento que se indican a continuación fueron obtenidas con un analizador Roche/Hitachi 917.

Sensibilidad

Límite de cuantificación (LoQ)

El LoQ del Ensayo del topiramato de ARK se calculó en conformidad con EP17-A de CLSI y está definido como la concentración más baja para la que se observa una precisión y una recuperación entre ensayos aceptable ($\leq 20\%$ CV con $\pm 15\%$ de recuperación). Se obtuvo un LoQ de 1,5 $\mu\text{g/ml}$, un valor que está en relación con las características del analizador empleado.

Margen del ensayo

Los márgenes del ensayo son de 1,5 a 54,0 $\mu\text{g/ml}$. Anotar los resultados por debajo de este margen como $<1,5 \mu\text{g/ml}$ o anotar como debajo del LoQ inferior establecido en su laboratorio para el analizador en cuestión. Anotar los resultados por encima de este margen como $<54,00 \mu\text{g/ml}$ o como resultados superiores al LoQ superior establecido en su laboratorio para el analizador en cuestión.

Exactitud

La exactitud (recuperación analítica) se calculó añadiendo topiramato concentrado a suero humano negativo al topiramato. Fue añadido un volumen determinado de un concentrado procedente de un lote de topiramato altamente puro al suero humano negativo al topiramato, representándose así las concentraciones del fármaco en el rango del ensayo. Fueron ensayadas seis réplicas de cada muestra en un analizador químico-clínico automatizado. Fue calculado el promedio de los resultados y comparado con la concentración teórica para calcular el valor porcentaje de la recuperación. Los resultados se muestran a continuación.

$$\% \text{ de recuperación} = 100 \times \frac{\text{Concentración media recuperada}}{\text{Concentración teórica}}$$

Concentración teórica (µg/ml)	Concentración media recuperada (µg/ml)	Porcentaje de recuperación
1,5	1,4	95,6
2,5	2,7	106,7
4,0	4,2	104,2
5,0	5,3	106,0
6,0	6,4	106,7
10,0	10,4	103,8
15,0	15,5	103,4
30,0	30,8	102,6
45,0	47,3	105,0
55,0	58,9	107,1

Linealidad

Los estudios de linealidad se realizaron según lo recomendado en el Protocolo EP6-Ed2 del CLSI. Fue preparada una muestra de suero de 60,0 µg/mL y se hicieron diluciones proporcionales con suero humano negativo para el topiramato. Las concentraciones de topiramato oscilaban entre 1,8 y 54,0 µg/mL. Se demostró linealidad entre 1,8 y 54,0 µg/mL con una desviación de la linealidad no superior al 12%. Los resultados se muestran a continuación.

Valor nominal (µg/mL)	Promedio (µg/mL) (N=6)	Desviación de la linealidad (µg/mL)	% de desviación de la linealidad
1.8	1.7	-0.21	-11.3%
2.4	2.4	-0.11	-4.6%
3.0	3.0	-0.14	-4.4%
3.6	3.7	-0.04	-1.0%
4.2	4.4	0.07	1.7%
4.8	4.9	-0.03	-0.6%
5.4	5.8	0.20	3.6%
6.0	6.3	0.05	0.7%
18.0	18.9	0.25	1.4%
30.0	31.4	0.35	1.1%
42.0	44.8	1.32	3.0%
54.0	56.5	0.65	1.2%

Comparación de métodos

Fueron investigadas las correlaciones ateniéndose al protocolo EP9-A2 de CLSI/NCCLS. Fueron comparados los resultados del Ensayo de topiramato de ARK con los resultados de un inmunoensayo FPIA

presente en el comercio. Las concentraciones del topiramato oscilaban entre 1,5 µg/ml y 53,4 µg/ml. Abajo figuran los resultados del análisis de la regresión de Passing-Bablok⁹ para este estudio.

Pendiente	0,99
Intersección en y	- 0,17
Coefficiente de correlación (r ²)	0,99
Número de muestras	113

Precisión

La precisión fue determinada según el procedimiento descrito en el protocolo EP5-A2 de CLSI/NCCLS. En el estudio se usaron controles de tres niveles de topiramato. Cada nivel de control fue ensayado por cuadruplicado dos veces al día durante 20 días. Las series diarias distaban entre sí al menos dos horas. Fue calculada la precisión intraserial y la interdiaria, la DE total y los CVs porcentuales. Los resultados se muestran a continuación. Criterios de aceptación: <10% CV total.

Muestra	N	Promedio (µg/ml)	Intraserial		Interdiario		Dentro del laboratorio	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
1	160	2,4	0,08	3,5	0,05	2,0	0,10	4,3
2	160	10,2	0,24	2,4	0,14	1,4	0,28	2,7
3	160	40,2	1,19	2,9	0,64	1,6	1,29	3,2

Sustancias interferentes

Fueron realizados estudios de interferencias empleando como guía el protocolo EP7-A2 de CLSI/NCCLS. Fueron evaluadas concentraciones clínicamente altas de las siguientes sustancias potencialmente interferentes en sueros con niveles conocidos de topiramato (aprox. 5 y 20 µg/ml). Fue ensayada cada muestra usando el Ensayo del topiramato de ARK junto con un control sérico del topiramato. La medición del topiramato resultó en un error ≤10% en presencia de sustancias interferentes a los niveles testados.

Sustancia interferente	Concentración interferente
Albumina	12 g/dl
Bilirrubina	60 mg/dl
Colesterol	301 mg/dl
Gamma globulina	10 g/dl
Hemoglobina	1000 mg/dl

Heparina	200 unid./ml
Factor reumatoide	1000 UI/ml
Triglicéridos	1105 mg/dl
Ácido úrico	25 mg/dl

Especificidad

Se ensayó la reactividad cruzada con un metabolito conocido del topiramato. Otros fármacos que se suelen administrar junto con el topiramato y otros fármacos antiepilépticos fueron testados también con la finalidad de comprobar si dichos compuestos influyen sobre la determinación de la concentración de topiramato con el Ensayo de topiramato ARK. Se añadieron altos niveles de dichos compuestos en las mezclas de suero con nivel terapéutico bajo (5 µg/ml) y con nivel terapéutico alto (20 µg/ml) de topiramato. Las muestras fueron analizadas y las concentraciones de topiramato de las muestras con interferentes fueron comparadas con el control sérico.

Metabolitos

Los metabolitos del topiramato fueron hallados sobre todo en la orina de los pacientes a los que se les administró topiramato.³ Es improbable que los resultados en el suero y en el plasma del Ensayo de topiramato ARK sean condicionados por el metabolismo del fármaco, puesto que los niveles plasmáticos de los metabolitos normalmente no son clínicamente relevantes. Se probó la reactividad cruzada de este metabolito.

Metabolito	Conc. de metabolito (µg/ml)	Reactividad cruzada en %		Interferencia en %	
		Baja Topiramato	Alta Topiramato	Baja Topiramato	Alta Topiramato
9-hidroxi topiramato	40,0	1,2	1,6	8,6	3,2

Interferencia con fármacos

El anticuerpo específico para el topiramato no presenta reacción cruzada con otros fármacos antiepilépticos ni en casos de coadministración de más fármacos. Fue añadida una alta concentración de cada compuesto dentro del suero humano normal con los conocidos niveles de topiramato (aprox. 5 y 20 µg/ml) para luego realizar un ensayo con un control sérico de topiramato. La medición del topiramato resultó en un error ≤10% en presencia de compuestos a los niveles testados.

Compuesto	Conc. (µg/ml)	Compuesto	Conc. (µg/ml)
Acetaminofén	50	Levetiracetam	200
Acetazolamida	50	Metisergida	100
Alprazolam	20	Metoprolol	100
Amitriptilina	10	Nadolol	150
Ácido acetilsalicílico	100	Naproxeno	600
Atenolol	50	Nimodipina	100
Cafeína	100	Nortriptilina	10
Carbamazepina	100	Oxcarbazepina	50
Clortalidona	100	Fenelzina	15
Clonazepam	50	Fenobarbital	40
Clorazepato	20	Fenitoína	50
Diazepam	50	Primidona	100
Diclorfenamida	40	Protriptilina	20
Etosuximida	500	Ácido salicílico	750
Famotidina	50	Sulfanilamida	2000
Felbamato	500	Tiagabina	200
Flurazepam	20	Tolbutamida	750
Furosemida	10	Ácido valproico	200
Acetaminofén	100	Verapamilo	100
Acetazolamida	60	Vigabatrina	150
Alprazolam	500	Zonisamida	200
Amitriptilina	100		

13 Bibliografía

1. *Topamax® Prescribing Information* [Ficha técnica de Topamax®]. 2009. Janssen Pharmaceuticals Inc. (Titusville, NJ); www.topamax.com.
2. CLSI. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition* [Procedimientos para la manipulación y el procesamiento de muestras de sangre para pruebas de laboratorio comunes; Directriz aprobada — Cuarta edición]. *CLSI document GP44-A4* [Documento GP44-A4 del CLSI]. Wayne, PA: *Clinical and Laboratory Standards Institute* [Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio]; 2010.
3. Johannessen, S. I. et al. 2003. *Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Antiepileptic Drugs* Seguimiento terapéutico de los nuevos fármacos antiepilépticos]. *The Drug Monit.* **25**:347-63.
4. Johannessen Landmark, C. et al. 2020. *Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs: current status and future prospects* [Monitorización terapéutica de fármacos antiepilépticos: situación actual y perspectivas de futuro]. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **16**, 227–238.
5. Patsalos, P. N. et al. 2008. *Antiepileptic drugs – best practice guidelines for therapeutic drug monitoring* [Fármacos antiepilépticos: directrices de buenas prácticas para la monitorización terapéutica de fármacos]: *A position paper by the subcommission on therapeutic drug*

monitoring, *ILAE Commission on Therapeutic Strategies* [Un documento de posición de la subcomisión de monitorización de fármacos terapéuticos, Comisión de Estrategias Terapéuticas de la ILAE]. *Epilepsia* **49**:1239-1276.

6. Patsalos, P. N. *et al.* 2018. *Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in epilepsy* [Seguimiento terapéutico de los fármacos antiepilépticos en la epilepsia]: A 2018 update. *Ther Drug Monit* **40**:526-548.
7. Hiemke, C. *et al.* 2018. *Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology* [Directrices de consenso para la monitorización terapéutica de fármacos en neuropsicofarmacología]: Update 2017. *Pharmacopsychiatry* **51**:9-62.
8. Arfman, I. J. *et al.* 2020. *Therapeutic Drug Monitoring of Antiepileptic Drugs in Women with Epilepsy Before, During, and After Pregnancy* [Monitorización terapéutica de fármacos antiepilépticos en mujeres con epilepsia antes, durante y después del embarazo]. *Clin. Pharmacokinet.* **59**, 427–445.]
9. Bablok, W., Passing, H., Bender, R., and Schneider, B. 1988. *A general regression procedure for method transformation* [Un procedimiento general de regresión para la transformación de métodos]. *Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry* [Aplicación de procedimientos de regresión lineal para estudios de comparación de métodos en química clínica]. Part III. *J. Clin Chem Clin Biochem* **26**:783-90.
10. Britzi, M. *et al.* 2005. Pharmacokinetic and Metabolic Investigation of Topiramate Disposition in Healthy Subjects in the Absence and in the Presence of Enzyme Induction by Carbamazepine [Investigación farmacocinética y metabólica de la disposición del topiramato en sujetos sanos en ausencia y en presencia de inducción enzimática por carbamazepina]. *Epilepsia* **46**:378-84.

14 Marcas registradas

ARKTM es una marca registrada de **ARK** Diagnostics, Inc.

Donde aparezcan otros nombres de producto, estos también podrían ser marcas registradas.

U.S. Patent No. 5,952,187



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Revisado Marzo del 2025
1600-0105-00ES Rev 07