

**CHORUS  
Promonitor®  
Adalimumab**

**REF 86702**



**DIESSE**

DIESSE Diagnostica Senese  
S.p.A.  
Strada dei Laghi, 39  
53035 Monteriggioni (SIENA)  
Italy





## ISTRUZIONI PER L'USO

### CHORUS Promonitor® Adalimumab

#### Per la determinazione quantitativa di Adalimumab (ADL) nel siero umano

#### Solo per uso diagnostico *in vitro*

### 1. UTILIZZAZIONE

Chorus Promonitor® Adalimumab è un kit di immunodosaggio per la determinazione quantitativa automatizzata di Adalimumab (ADL) nel siero umano con dispositivo monouso applicato allo strumento Chorus TRIO. Il prodotto, utilizzato in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio, è utile come ausilio nella gestione dei pazienti trattati con Adalimumab (ADL), come i pazienti con patologie reumatiche e gastrointestinali. Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

### 2. INTRODUZIONE

Adalimumab (ADL) è un anticorpo monoclonale umano ricombinante prodotto in cellule ovariche di criceto cinese (CHO) utilizzato nel trattamento di patologie infiammatorie. Tali patologie comprendono l'artrite reumatoide (RA), l'artrite idiopatica giovanile poliarticolare (AIG), l'artrite psoriasica (PA), la spondilite anchilosante (AS), la malattia di Crohn (CD) e la psoriasi (PsO). L'ADL è un farmaco biologico immunomodulatore che lega il TNF- $\alpha$ , una citochina che svolge un ruolo importante nella patogenesi di queste malattie, inibisce il legame con il suo recettore e previene l'insorgenza della cascata infiammatoria. Come altri farmaci biologici, l'ADL può portare allo sviluppo di anticorpi anti-farmaco (ADA). Gli studi confermano una significativa correlazione inversa tra biodisponibilità di ADL e presenza di ADA. La risposta clinica all'ADL è strettamente correlata ai livelli minimi del farmaco e alla presenza di ADA. È stato dimostrato che l'immunogenicità dell'ADL è associata alla perdita della risposta clinica in RA, CD e PsO. Inoltre, i pazienti che sviluppano anticorpi anti-ADL hanno maggiori probabilità di non rispondere alla terapia, mentre i pazienti con livelli terapeutici di farmaco hanno maggiori probabilità di manifestare una risposta clinica adeguata alla terapia con ADL in RA e IBD (malattia infiammatoria intestinale).

### 3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Chorus Promonitor® Adalimumab è pronto all'uso per la determinazione di Adalimumab (ADL) nel siero umano, nello strumento Chorus TRIO.

Il test si basa su un metodo ELISA a "sandwich".

I pozzetti delle micropiastre sono pre-rivestiti con un anticorpo monoclonale umano anti-ADL. Calibratore, controllo positivo e campioni vengono aggiunti a un dispositivo separato.

L'ADL è in grado di legarsi all'anti-ADL pre-immobilizzato in seguito a incubazione con il campione. Dopo il lavaggio per eliminare il campione non legato, si aggiunge un anticorpo anti-

ADL marcato con HRP (coniugato). Una seconda fase di incubazione consente al coniugato di legarsi all'ADL che ha aderito ai pozzetti della micropiastre. Gli anticorpi monoclonali contro l'ADL non competono con il TNF- $\alpha$  per il legame con l'ADL. Dopo il lavaggio per eliminare l'eccesso di coniugato non legato, si aggiunge il substrato per la perossidasi. La reazione enzimatica viene interrotta aggiungendo la soluzione di arresto, che fa virare la soluzione al giallo. Il colore che si sviluppa è proporzionale alla quantità di farmaco presente nel campione del paziente.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati allo strumento Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in  $\mu\text{g/ml}$  calcolati in riferimento al 1° Standard Internazionale per Adalimumab (codice NIBSC: 16/236).

### 4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

#### SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e hanno dato una risposta negativa per la presenza di HbsAg e per gli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Seguire tutte le precauzioni normalmente adottate nella pratica di laboratorio quando si maneggia materiale di origine umana.

**Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti e smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.**

#### Informazioni su salute e sicurezza

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Acidi neutralizzati e altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Per garantire una disinfezione efficace potrebbe essere necessaria un'esposizione di 30 minuti al sodio ipoclorito all'1%.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se nel versamento è presente un acido, asciugare la zona inquinata prima di usare il sodio ipoclorito. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti, compresi i guanti, devono essere smaltiti come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

**Avvertenze analitiche**

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30 °C) per almeno 30 minuti e impiegare entro 60 minuti.

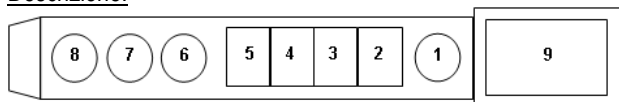
1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 2) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso; non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'uso e il Manuale utente dello strumento.  
**L'utilizzo del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata del software. Assicurarsi che il software installato sullo strumento sia una versione (Rel.) corrispondente o successiva a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito DIESSE**  
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente).
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. L'utilizzo di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano contaminazione microbica può costituire fonte di errore.
11. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
12. **Controllare che lo strumento sia collegato al Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

## 5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni.

**DD** DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



**Posizione 9:** Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

**Posizione 8:** TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

**Posizione 7:** POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con un anticorpo monoclonale umano anti-ADL

**Posizione 6:** POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con un anticorpo monoclonale umano anti-ADL

**Posizione 5:** SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0,3 M

**Posizione 4:** CONIUGATO

Contenuto: Anticorpo anti-ADL marcato con HRP e tampone contenente conservante

**Posizione 3:** TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

**Posizione 2:** SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina stabilizzata in tampone citrato

**Posizione 1:** POZZETTO VUOTO

in cui trasferire il campione.

**Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente**, aprire la busta e prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2-8 °C.

**CALIBRATOR** CALIBRATORE 1 x 0.400 ml

Contenuto: siero umano contenente ADL e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

**CONTROL +** CONTROLLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: siero umano contenente ADL e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

## ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Strumento Chorus TRIO
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl
- Guanti monouso
- Soluzione di sodio ipoclorito (5%)
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

## 6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8 °C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione è necessario ripetere la calibrazione e controllare la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta del kit.

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

|                    |                      |
|--------------------|----------------------|
| DISPOSITIVI        | 8 settimane a 2/8 °C |
| CALIBRATORE        | 8 settimane a 2/8 °C |
| CONTROLLO POSITIVO | 8 settimane a 2/8 °C |

## 7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato con le precauzioni richieste nelle procedure standard di laboratorio. Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8 °C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20 °C.

Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinatori per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

Si raccomanda vivamente di evitare qualsiasi trattamento intenso dei campioni.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

## 8. PROCEDIMENTO

**Il test CHORUS Promonitor® Adalimumab (REF. 86700) può essere eseguito contemporaneamente SOLO agli altri test CHORUS Promonitor®.**

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo:

|                    |                           |
|--------------------|---------------------------|
| CAMPIONE           | <b>50 µl/dispositivo</b>  |
| CALIBRATORE        | <b>130 µl/dispositivo</b> |
| CONTROLLO POSITIVO | <b>130 µl/dispositivo</b> |

4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus TRIO. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale Utente dello strumento

## 9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il controllo positivo per verificare la correttezza dei risultati ottenuti, processandolo come indicato nel Manuale utente dello strumento. Se lo strumento segnala che il controllo positivo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del controllo positivo continua a essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: [scientificsupport@diesse.it](mailto:scientificsupport@diesse.it)

## 10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento Chorus TRIO fornisce il risultato in µg/ml, calcolati in base a un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

Il test sul siero in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è  $\geq 0.30$  µg/ml

NEGATIVO: quando il risultato è  $< 0.30$  µg/ml

## 11. LIMITAZIONI

1. Dovrebbero essere misurati i livelli minimi di ADL. Il momento ottimale per il prelievo del campione è immediatamente prima dell'iniezione di ADL.
2. Questo test misura l'ADL libero. Sebbene possa rilevare l'ADL legato al TNF- $\alpha$ , questo contributo è trascurabile, poiché la concentrazione di TNF- $\alpha$  circolante è nell'ordine di picogrammi per millilitro.

3. Questo test non misura l'ADL legato agli anticorpi anti-ADL (immunocomplessi) che potrebbero essere stati sviluppati dal paziente a causa dell'immunogenicità del farmaco.
4. Questo test non è inteso per l'uso come ausilio nella diagnosi, né come test diagnostico di accompagnamento. Il medico deve interpretare i risultati del test nel contesto di altre variabili come la finestra di campionamento, la metodologia, gli anticorpi anti-ADL e altri risultati clinici come l'attività della malattia.
5. Sebbene sia stato confermato che il dosaggio funziona con il plasma, non sono state stabilite le caratteristiche prestazionali del dosaggio su matrici diverse dal siero.
6. Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale di laboratorio professionale che abbia ricevuto una formazione adeguata.

## 12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 0.30-55.0 µg/ml

Per campioni  $> 55$  µg/ml, ripetere il test diluendo il campione con Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - non fornito con il kit).

## 13. RANGE DI RIFERIMENTO

Nella popolazione normale i valori attesi, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, sono negativi, con valori  $< 0.30$  µg/ml.

## 14. SPECIFICITÀ ANALITICA

Sono stati testati 3 campioni (1 Negativo, 1 Debolmente Positivo e 1 Altamente Positivo) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Bilirubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)  
Trigliceridi (250 mg/dl - 1500 mg/dl)  
Emoglobina (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

La presenza nel campione di siero delle sostanze interferenti sopra elencate (a eccezione dell'emoglobina) non altera il risultato del test.

## 15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 15 campioni. non contenenti ADL ma contenenti varie concentrazioni di IFX - 5 campioni (11.2 - 48.4 µg/ml). ETN - 5 campioni (10.0 µg/ml) e HAMA - 5 campioni (38 - 86 ng/ml).

Non sono state rilevate reazioni crociate.

## 16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 153 campioni con un kit Diesse e un altro kit in commercio.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

|        |        | Riferimento |     |        |
|--------|--------|-------------|-----|--------|
|        |        | +           | -   | Totale |
| Diesse | +      | 47          | 0   | 47     |
|        | -      | 0           | 106 | 106    |
|        | Totale | 47          | 106 | 153    |

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):  
100.0% IC<sub>95%</sub>: 92.4-99.9

Percentuale di concordanza negativa (~ specificità diagnostica):

100.0% IC<sub>95%</sub>: 96.5-100.0

Valore predittivo positivo (PPV): 100.0% IC<sub>95%</sub>: 100.0-100.0  
 Valore predittivo negativo (NPV): 100.0% IC<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

Il grado di concordanza tra i due metodi è ottimo con un valore di K (coefficiente di Cohen) di 1.

Dei 153 campioni, su 47 campioni positivi è stata testata la correlazione tra il kit Diesse e un altro kit in commercio.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

| Correlazione | r    | IC 95%    |
|--------------|------|-----------|
| Pearson      | 0.97 | 0.94-0.98 |
| Spearman     | 0.97 | 0.95-0.99 |

La correlazione tra i due metodi è molto elevata.

## 17. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

| Campione | All'interno della seduta |      | Tra sedute    |      |
|----------|--------------------------|------|---------------|------|
|          | Media (µg/ml)            | CV%  | Media (µg/ml) | CV%  |
| 1        | 16.1                     | 7.0  | 16.7          | 6.5  |
| 2        | 9.4                      | 3.7  | 9.1           | 3.8  |
| 3        | 3.9                      | 5.4  | 3.9           | 7.4  |
| 4        | 0.47                     | 12.8 | 0.47          | 10.6 |
| 5        | 0.30                     | -    | 0.30          | -    |
| 6        | 0.30                     | -    | 0.30          | -    |

| Campione | Tra lotti     |     | Tra strumenti |      |
|----------|---------------|-----|---------------|------|
|          | Media (µg/ml) | CV% | Media (µg/ml) | CV%  |
| 1        | 19.7          | 3.8 | 17.5          | 13.9 |
| 2        | 9.3           | 6.8 | 8.8           | 12.8 |
| 3        | 5.1           | 6.7 | 4.0           | 12.8 |
| 4        | 0.50          | 6.0 | 0.46          | 13.0 |
| 5        | 0.30          | -   | 0.30          | -    |
| 6        | 0.30          | -   | 0.30          | -    |

## 18. BIBLIOGRAFIA

1. Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014
2. Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
3. Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
4. Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
5. Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010;146:127-132.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
 Strada dei Laghi, 39  
 53035 Monteriggioni (SIENA)  
 Italia





## INSTRUCTIONS FOR USE

### CHORUS Promonitor® Adalimumab

#### For the quantitative detection of Adalimumab (ADL) in human serum

#### For *In Vitro* Diagnostic Use Only

##### 1. INTENDED USE

Chorus Promonitor® Adalimumab is an immunoassay kit for automated quantitative detection of Adalimumab (ADL) in human serum using a disposable device applied on the Chorus TRIO instrument.

The product, used in conjunction with other clinical and laboratory findings, is useful as an aid in the management of patients treated with Adalimumab (ADL), like patients with rheumatic and gastrointestinal diseases.

It must be used by professional laboratory users only.

##### 2. INTRODUCTION

Adalimumab (ADL) is a recombinant human monoclonal antibody expressed in Chinese Hamster Ovary (CHO) cells used in the treatment of inflammatory diseases. This includes rheumatoid arthritis (RA), polyarticular juvenile idiopathic arthritis (JIA), psoriatic arthritis (PA), ankylosing spondylitis (AS), Crohn's disease (CD) and Psoriasis (PsO). ADL is an immunomodulator biological drug which binds TNF $\alpha$ , a cytokine that plays an important role in the pathogenesis of these diseases, inhibits binding with its receptor, and prevents triggering the inflammatory cascade. As for other biological drugs, ADL can lead to the development of anti-drug antibodies (ADAs). Studies confirm a significant inverse correlation between ADL bioavailability and ADAs presence. The clinical response to ADL closely follows the trough drug levels and the presence of ADAs. It has been demonstrated that immunogenicity of ADL is associated with loss of clinical response in RA, CD and PsO. Furthermore, patients who develop anti-ADL antibodies are more likely not to respond to the therapy and those with therapeutic drug levels are more likely to have an adequate clinical response to ADL therapy in RA and IBD (Inflammatory Bowel Disease).

##### 3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Chorus Promonitor® Adalimumab device is ready to use for the detection of Adalimumab (ADL) in human serum, in the Chorus TRIO instrument.

The assay is based on a "sandwich" ELISA method.

The microwell strips are pre-coated with an anti-ADL human monoclonal antibody. Calibrator, positive control and samples are added to separate device.

ADL is able to bind to preimmobilized anti-ADL following incubation with the sample. After washing to remove the unbound sample, a HRP-labelled anti-ADL antibody (conjugate) is added. A second incubation step allows the conjugate to bind to the ADL that has become attached to the microwells. Monoclonal antibodies to ADL do not compete with TNF $\alpha$  for the

binding to ADL. After washing to remove the excess of unbound conjugate, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding Stop Solution, which makes the solution turn to yellow. The color which develops is proportional to the amount of drug in the patient sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus TRIO instrument.

The results are expressed in  $\mu\text{g/ml}$  calculated in reference to 1<sup>st</sup> International Standard for Adalimumab (NIBSC code: 16/236).

#### 4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

##### FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response for the presence of HbsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

**Waste disposal: serum samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.**

##### Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30-minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

##### Analytical Precautions

Bring the bags with the devices to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes before use.

Use the devices within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 2) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which



are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.

4. The devices are for use with the Chorus TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.

**The use of the kit is only possible with CHORUS TRIO with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website**

(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

5. Check that the Chorus TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. The use of strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, of serum not completely coagulated or of samples presenting microbial contamination may all constitute sources of error.
11. Do not use the device after the expiry date.
12. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

## 5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

**DD** DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



**Position 9:** Space for application of bar code label

**Position 8:** DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

**Position 7:** MICROPLATE WELL

Coated with an anti-ADL human monoclonal antibody

**Position 6:** MICROPLATE WELL

Coated with an anti-ADL human monoclonal antibody

**Position 5:** STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

**Position 4:** CONJUGATE

HRP-labelled anti-ADL antibody and buffer containing preservative

**Position 3:** DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

**Position 2:** TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine stabilized in citrate buffer

**Position 1:** EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

**Use:** equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and seal by pressing the closure. Store at 2-8°C.

|                                                                                   |                  |              |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------|
| <b>CALIBRATOR</b>                                                                 | CALIBRATOR       | 1 x 0.400 ml |
| Contents: Human serum containing ADL, and preservative.<br>Liquid, ready for use. |                  |              |
| <b>CONTROL +</b>                                                                  | POSITIVE CONTROL | 1 x 0.800 ml |
| Contents: Human serum containing ADL, and preservative.<br>Liquid, ready for use. |                  |              |

## MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Chorus TRIO instrument
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

## 6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

**Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be repeated and the run validated using the control serum (see section 9, Test validation).**

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

**Reagents have a limited stability after opening:**

|                  |                  |
|------------------|------------------|
| DEVICES          | 8 weeks at 2/8°C |
| CALIBRATOR       | 8 weeks at 2/8°C |
| POSITIVE CONTROL | 8 weeks at 2/8°C |

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice.

Possible consequences, in case of use of other biological liquids, are not known.

The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

It is strongly recommended to avoid any harsh treatment of the samples.

The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

## 8. ASSAY PROCEDURE

**The test CHORUS Promonitor® Adalimumab (REF. 86700) can be performed simultaneously ONLY with the other CHORUS Promonitor® tests.**

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.

3. Dispense the following volumes in well no. 1 of each device:

|                  |               |
|------------------|---------------|
| SAMPLE           | 50 µl/device  |
| CALIBRATOR       | 130 µl/device |
| POSITIVE CONTROL | 130 µl/device |

4. Place the devices in the Chorus TRIO instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Instrument Operating Manual.

### 9. TEST VALIDATION

Use the positive control to check the validity of the obtained results. It should be used as reported in the Instrument Operating Manual. If the instrument signals that the positive control has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected. If the result of the positive control continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: scientificsupport@diesse.it

### 10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus TRIO instrument expresses the result in µg/ml, calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

The test on the examined serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is  $\geq 0.30$  µg/ml

NEGATIVE: when the result is  $< 0.30$  µg/ml

### 11. LIMITATIONS

1. Trough ADL levels should be measured. The optimum sample collection time is immediately before the ADL injection.
2. This assay measures free ADL. Although it could detect TNF $\alpha$ -bound ADL, this contribution is neglectable, since the concentration of circulating TNF $\alpha$  is in the range of picograms per milliliter.
3. This assay does not measure ADL bound to anti-ADL antibodies (immunocomplexes) which may have been developed by the patient due to drug immunogenicity.
4. This assay is not intended for use as an aid in diagnosis, neither as a companion diagnostic test. The clinician should interpret test results in the context of other variables like sampling window, methodology, anti-ADL antibodies and other clinical findings like disease activity.
5. Although the assay has been confirmed to work with plasma, the assay performance characteristics have not been established for matrices other than serum.
6. This product should only be used by appropriately trained laboratory professional personnel.

### 12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 0.30-55.0 µg/ml

For samples  $> 55$  µg/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - not supplied with the kit).

### 13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, are negative, with values  $< 0.30$  µg/ml.

### 14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples were tested (1 Negative, 1 Low Positive and 1 High Positive) to which the following interfering agents were added:

Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)  
Triglycerides (250 mg/dl - 1500 mg/dl)  
Hemoglobin (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

The presence in the serum sample of the interfering substances listed above (except for hemoglobin) does not affect the test result.

### 15. CROSS-REACTIONS

15 samples, not containing ADL, but containing various concentrations of IFX 5 samples (11.2 - 48.4 µg/ml), ETN 5 samples (10.0 µg/ml) and HAMA 5 samples (38 - 86 ng/ml) were tested.

No cross-reactions were found.

### 16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 153 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

|        |      | Reference |     |      |
|--------|------|-----------|-----|------|
|        |      | +         | -   | Tot. |
| Diesse | +    | 47        | 0   | 47   |
|        | -    | 0         | 106 | 106  |
|        | Tot. | 47        | 106 | 153  |

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI<sub>95%</sub>: 92.4-99.9

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI<sub>95%</sub>: 96.5-100.0

Positive Predictive Value (PPV): 100.0% CI<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

Negative Predictive Value (NPV): 100.0% CI<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 1.

Out of 153, for 47 positive samples the correlation between Diesse kit and a competitor kit was tested.

Data are summarized in the following table:

| Correlation | r    | 95%CI     |
|-------------|------|-----------|
| Pearson     | 0.97 | 0.94-0.98 |
| Spearman    | 0.97 | 0.95-0.99 |

The correlation between the two methods is very high.



## 17. PRECISION AND REPEATABILITY

| Sample | Within run   |      | Between run  |      |
|--------|--------------|------|--------------|------|
|        | Mean (µg/ml) | CV%  | Mean (µg/ml) | CV%  |
| 1      | 16.1         | 7.0  | 16.7         | 6.5  |
| 2      | 9.4          | 3.7  | 9.1          | 3.8  |
| 3      | 3.9          | 5.4  | 3.9          | 7.4  |
| 4      | 0.47         | 12.8 | 0.47         | 10.6 |
| 5      | 0.30         | -    | 0.30         | -    |
| 6      | 0.30         | -    | 0.30         | -    |

| Sample | Between lots |     | Between instruments |      |
|--------|--------------|-----|---------------------|------|
|        | Mean (µg/ml) | CV% | Mean (µg/ml)        | CV%  |
| 1      | 19.7         | 3.8 | 17.5                | 13.9 |
| 2      | 9.3          | 6.8 | 8.8                 | 12.8 |
| 3      | 5.1          | 6.7 | 4.0                 | 12.8 |
| 4      | 0.50         | 6.0 | 0.46                | 13.0 |
| 5      | 0.30         | -   | 0.30                | -    |
| 6      | 0.30         | -   | 0.30                | -    |

## 18. BIBLIOGRAPHY

1. Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and

therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014

2. Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
3. Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
4. Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
5. Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010,146:127-132.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi, 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italy**



**POKyny PRO Použití****CHORUS Promonitor® Adalimumab****Pro kvantitativní stanovení adalimumabu (ADL) v lidském séru****Určeno pouze k diagnostice *in vitro*****1. Použití**

Chorus Promonitor® Adalimumab je imunoanalytická souprava pro automatizované kvantitativní stanovení adalimumabu (ADL) v lidském séru pomocí jednorázového nástroje aplikovaného na zařízení Chorus TRIO.

Produkt použitý v kombinaci s dalšími klinickými a laboratorními výsledky slouží jako pomůcka při léčbě pacientů léčených adalimumabem (ADL), jako jsou pacienti s revmatickými a gastrointestinálními onemocněními.

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

**2. Úvod**

Adalimumab (ADL) je rekombinantní lidská monoklonální protilátka vytvářená v buňkách vaječníků čínského křečka (CHO), která se používá při léčbě zánětlivých onemocnění. Mezi tato onemocnění patří revmatoidní artritida (RA), juvenilní idiopatická polyartikulární artritida (AIG), psoriatická artritida (PA), ankylozující spondylitida (AS), Crohnova choroba (CD) a psoriáza (PsO). ADL je imunomodulační biologický lék, který váže TNF- $\alpha$ , cytokin, který hraje důležitou roli v patogenezi těchto onemocnění, inhibuje vazbu na jeho receptor a zabraňuje spuštění zánětlivé kaskády. Stejně jako jiné biologické léky může ADL vést ke vzniku protilátek proti léku (ADA). Studie potvrzují významnou inverzní korelaci mezi biologickou dostupností ADL a přítomností ADA. Klinická odpověď na ADL je v úzké korelaci s minimálními hladinami léku a přítomností ADA. Bylo prokázáno, že imunogenita ADL je spojena se ztrátou klinické odpovědi u RA, CD a PsO. Kromě toho je pravděpodobnější, že pacienti, u nichž se vytvoří protilátky anti-ADL, nebudou na léčbu reagovat, zatímco u pacientů s terapeutickými hladinami léku je u RA a IBD (zánětlivé střevní onemocnění) pravděpodobnější, že budou vykazovat adekvátní klinickou odpověď na léčbu ADL.

**3. PRINCIP METODY**

Nástroj Chorus Promonitor® Adalimumab je připraven k použití pro stanovení adalimumabu (ADL) v lidském séru, v zařízení Chorus TRIO.

Test je založen na „sendvičové“ metodě ELISA.

Mikrotitrační jamky jsou předem potaženy lidskou monoklonální protilátkou anti-ADL. Kalibrátor, pozitivní kontrola a vzorky se přidávají do samostatného nástroje.

ADL je schopen se po inkubaci se vzorkem vázat na předem imobilizovaný anti-ADL. Po promytí, aby se odstranil nenavázaný vzorek, se přidá protilátka anti-ADL značená HRP (konjugát). Druhá inkubační fáze umožňuje konjugátu se vázat na ADL, který ulpěl na mikrotitračních jamkách. Monoklonální protilátky proti ADL nekompetují s TNF- $\alpha$  o vazbu s ADL. Po promytí, aby se odstranil přebytečný nenavázaný konjugát, se přidá substrát pro peroxidázu. Enzymatická reakce se zastaví přidáním zastavovacího roztoku, který roztok zbarví do žluta.

Barva, která se vytvoří, je úměrná množství léku přítomného ve vzorku pacienta.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v  $\mu\text{g/ml}$  vypočtené podle 1. mezinárodní normy pro adalimumab (kód NIBSC: 16/236).

**4. VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ****URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO***

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními na přítomnost HbsAg a protilátek anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že nejsou přítomna infekční činidla, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při manipulaci s materiálem lidského původu dodržujte veškerá preventivní opatření, která jsou běžně přijata v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: s použitými vzorky séra, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčním materiálem a likvidovat je v souladu s platnými zákony.

**Informace o zdraví a bezpečnosti**

1. Nepipetujte ústy.
2. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení Chorus TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v příslušném bezpečnostním listu (k dispozici na požádání).
5. Neutralizované kyseliny a jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1%. Pro zajištění účinné dezinfekce může být vyžadováno 30minutové vystavení 1% chlornanu sodnému.
6. Případný rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Pokud je v rozlité látce kyselina, kontaminovanou oblast před použitím chlornanu sodného osušte. Všechny materiály použité k čištění případných potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně infekční odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevkládějte do autoklávy.

**Opatření pro správné provedení testu**

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30°C) alespoň po dobu 30 minut a použijte je do 60 minut.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 2) zlikvidujte.**
2. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.

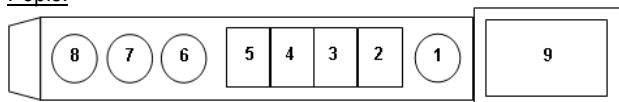
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagentů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením Chorus TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku zařízení.  
**Použití soupravy je možné pouze s CHORUS TRIO s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný na zařízení má verzi (Rel.) odpovídající nebo novější než tu, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse**  
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Zkontrolujte, zda je zařízení Chorus TRIO správně nastaveno (viz uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Neskladujte vzorky v mrazících s automatickým odmrazováním.
8. Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka).
9. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
10. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků vykazujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
11. Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
12. Zkontrolujte, zda je zařízení připojeno k Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).

## 5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

**DD** NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis:



**Pozice 9:** Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

**Pozice 8:** ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervant

**Pozice 7:** MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-ADL

**Pozice 6:** MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-ADL

**Pozice 5:** ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

**Pozice 4:** KONJUGÁT

Obsah: Protilátka anti-ADL značená HRP a pufr obsahující konzervant

**Pozice 3:** ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervant

**Pozice 2:** TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

**Pozice 1:** PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

**Použití:** nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě, poté jej otevřete a vyjměte potřebné nástroje; ostatní vraťte do sáčku

se siliciovým gelem, vypusťte vzduch a balení znovu neprodyšně **uzavřete** stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2-8 °C.

**CALIBRATOR** KALIBRÁTOR 1 x 0,400 ml

Obsah: lidské sérum obsahující ADL a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

**CONTROL +** POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 1,100 ml

Obsah: lidské sérum obsahující ADL a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

## DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Zařízení Chorus TRIO
- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný odběr objemu 50–200 µl
- Jednorázové rukavice
- Roztok chlornanu sodného (5%)
- Nádoby na sběr potenciálně infekčního materiálu

## 6. ZPŮSOB SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagenty je nutné skladovat při teplotě 2/8°C. Při nesprávné teplotě skladování je nutné opětovně provést kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz kapitola 9: Validace testu).

Datum použitelnosti je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagenty mají po otevření omezenou stabilitu:

|                    |                           |
|--------------------|---------------------------|
| NÁSTROJE           | 8 týdnů při teplotě 2/8°C |
| KALIBRÁTOR         | 8 týdnů při teplotě 2/8°C |
| POZITIVNÍ KONTROLA | 8 týdnů při teplotě 2/8°C |

## 7. ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum získané z krve odebrané běžnou venepunkcí, s nímž je nakládáno za dodržení bezpečnostních opatření vyžadovaných standardními laboratorními postupy.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 4 dnů při teplotě 2/8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu -20°C.

Neskladujte vzorky v mrazících s automatickým odmrazováním. Rozmražené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Důrazně se doporučuje vyhnout se jakémukoli intenzivnímu zpracování vzorků.

Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

## 8. POSTUP

Test CHORUS Promonitor® Adalimumab (REF. 86700) lze provádět současně **POUZE** s ostatními testy CHORUS Promonitor®.

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v bodě 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Do jamky č. 1 každého nástroje dejte:

|                    |                |
|--------------------|----------------|
| VZOREK             | 50 µl/nástroj  |
| KALIBRÁTOR         | 130 µl/nástroj |
| POZITIVNÍ KONTROLA | 130 µl/nástroj |

4. Umístěte nástroje do zařízení Chorus TRIO. Proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle uživatelské příručky zařízení.

## 9. VALIDACE TESTU

Pomocí pozitivní kontroly ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v uživatelské příručce zařízení. Pokud zařízení hlásí, že pozitivní kontrola vykazuje hodnotu mimo přijatelné rozmezí, je zapotřebí znovu provést kalibraci. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek pozitivní kontroly i nadále mimo přijatelné rozmezí, kontaktujte prosím oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
e-mail: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení Chorus TRIO vyjadřuje výsledky v µg/ml, vypočítané na základě grafu podle šarží, který je uložen v paměti zařízení.

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek  $\geq 0,30$  µg/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek  $< 0,30$  µg/ml

## 11. OMEZENÍ

1. Měly by být měřeny minimální úrovně ADL. Optimální doba odběru vzorků je bezprostředně před injekcí ADL.
2. Tento test měří volný ADL. I když může detekovat ADL vázaný na TNF- $\alpha$ , je tento přínos zanedbatelný, protože koncentrace cirkulujícího TNF- $\alpha$  se pohybuje v řádu pikogramů na mililitr.
3. Tento test neměří ADL vázaný na protilátky anti-ADL (imunokomplexy), které by se mohly u pacienta vytvořit v důsledku imunogenicity léku.
4. Tento test není určen k použití jako pomůcka při diagnostice ani jako doprovodný diagnostický test. Lékař musí výsledky testu interpretovat v kontextu dalších proměnných, jako je odběrové vzorkovací okno, metodika, protilátky anti-ADL a další klinické výsledky, jako aktivita onemocnění.
5. I když bylo potvrzeno, že dávkování funguje s plazmou, nebyly stanoveny výkonnostní charakteristiky dávkování na jiných matricích než sérum.
6. Tento produkt smí používat pouze odborný laboratorní personál, který prošel příslušným školením.

## 12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 0,30-55,0 µg/ml

U vzorků  $> 55$  µg/ml zopakujte test rozředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (REF 83607 - není součástí soupravy).

## 13. REFERENČNÍ ROZSAH

Očekávané hodnoty v normální populaci stanovené vyšetřením 120 sér od zdravých dárců jsou negativní s hodnotami  $< 0,30$  µg/ml.

## 14. ANALYTICKÁ SPECIFITA

Byly testovány 3 vzorky (1 negativní, 1 níže pozitivní a 1 vysoce pozitivní), k nimž byly přidány následující interferenční látky:

Bilirubin (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)

Triglyceridy (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek ve vzorku séra (s výjimkou hemoglobinu) nemění výsledek testu.

## 15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

Bylo testováno 15 vzorků neobsahujících ADL, ale obsahujících různé koncentrace IFX – 5 vzorků (11,2 - 48,4 µg/ml). ETN – 5 vzorků (10,0 µg/ml) a HAMA – 5 vzorků (38 – 86 ng/ml).

Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

## 16. SROVNÁNÍ METOD

V testu bylo analyzováno 153 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

|        |        | Reference |     |        |
|--------|--------|-----------|-----|--------|
|        |        | +         | -   | Celkem |
| Diesse | +      | 47        | 0   | 47     |
|        | -      | 0         | 106 | 106    |
|        | Celkem | 47        | 106 | 153    |

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

100,0%  $CI_{95\%}$ : 92,4-99,9

Procento negativní konkordance: (~ diagnostická specifita):

100,0%  $CI_{95\%}$ : 96,5-100,0

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): 100,0%  $CI_{95\%}$ : 100,0-100,0

Negativní prediktivní hodnota (NPV): 100,0%  $CI_{95\%}$ : 100,0-100,0

Stupeň konkordance mezi oběma metodami je velmi dobrý s hodnotou K (Cohenův koeficient) rovnou 1.

Ze 153 vzorků bylo 47 pozitivních vzorků testováno na korelaci mezi soupravou Diesse a jinou komerčně dostupnou soupravou.

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

| Korelace | r    | IC 95%    |
|----------|------|-----------|
| Pearson  | 0,97 | 0,94-0,98 |
| Spearman | 0,97 | 0,95-0,99 |

Korelace mezi těmito dvěma metodami je velmi vysoká.

## 17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

| Vzorek | Přesnost v rámci měření |                            | Mezi měřeními  |                            |
|--------|-------------------------|----------------------------|----------------|----------------------------|
|        | Průměr (µg/ml)          | Variační koeficient (CV) % | Průměr (µg/ml) | Variační koeficient (CV) % |
| 1      | 16,1                    | 7,0                        | 16,7           | 6,5                        |
| 2      | 9,4                     | 3,7                        | 9,1            | 3,8                        |
| 3      | 3,9                     | 5,4                        | 3,9            | 7,4                        |
| 4      | 0,47                    | 12,8                       | 0,47           | 10,6                       |
| 5      | 0,30                    | -                          | 0,30           | -                          |
| 6      | 0,30                    | -                          | 0,30           | -                          |

| Vzorek | Mezi šaržemi   |                            | Přesnost mezi nástroji |                            |
|--------|----------------|----------------------------|------------------------|----------------------------|
|        | Průměr (µg/ml) | Variační koeficient (CV) % | Průměr (µg/ml)         | Variační koeficient (CV) % |
| 1      | 19,7           | 3,8                        | 17,5                   | 13,9                       |
| 2      | 9,3            | 6,8                        | 8,8                    | 12,8                       |
| 3      | 5,1            | 6,7                        | 4,0                    | 12,8                       |
| 4      | 0,50           | 6,0                        | 0,46                   | 13,0                       |
| 5      | 0,30           | -                          | 0,30                   | -                          |
| 6      | 0,30           | -                          | 0,30                   | -                          |

## 18. BIBLIOGRAFIE

1. Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014
2. Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
3. Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
4. Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
5. Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010,146:127-132.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
 Strada dei Laghi, 39  
 53035 Monteriggioni (SIENA)  
 Italia





## GEBRAUCHSANLEITUNG

### CHORUS Promonitor® Adalimumab

#### Zur quantitativen Bestimmung von Adalimumab (ADL) in Humanserum

#### Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

##### 1. VERWENDUNGSZWECK

Chorus Promonitor® Adalimumab ist ein Immunoassay-Testsatz für die automatisierte quantitative Bestimmung von Adalimumab (ADL) in Humanserum mit einem Einweg-Testmodul, das in Kombination mit dem Chorus TRIO Laboranalysator verwendet wird.

Das Produkt ist in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden hilfreich bei der Behandlung von Patienten, denen Adalimumab (ADL) verabreicht wird, wie z. B. Patienten mit rheumatischen und Magen-Darm-Erkrankungen.

Es darf nur von professionellen Labortechnikern verwendet werden.

##### 2. EINLEITUNG

Adalimumab (ADL) ist ein rekombinanter humaner monoklonaler Antikörper, der in Ovarialzellen des Chinesischen Hamsters (CHO) produziert und zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen verwendet wird. Diese Erkrankungen umfassen rheumatoide Arthritis (RA), polyartikuläre juvenile idiopathische Arthritis (JIA), Psoriasis-Arthritis (PA), ankylosierende Spondylitis (AS), Morbus Crohn (CD) und Psoriasis (PsO). ADL ist ein immunmodulatorisches Biopharmazeutikum, das TNF- $\alpha$  bindet, ein Zytokin, das eine wichtige Rolle bei der Pathogenese dieser Krankheiten spielt, seine Rezeptorbindung hemmt und die Initiierung der Entzündungskaskade verhindert. Wie andere Biopharmazeutika kann ADL zur Entwicklung von Anti-Drug-Antikörpern (ADA) führen. Studien bestätigen eine signifikante inverse Korrelation zwischen der Bioverfügbarkeit von ADL und der Präsenz von ADA. Die klinische Reaktion auf ADL hängt eng mit den Talspiegeln des Arzneimittels und der Präsenz von ADA zusammen. Es wurde gezeigt, dass die ADL-Immunogenität mit dem Verlust des klinischen Ansprechens bei RA, CD und PsO verbunden ist. Darüber hinaus ist es wahrscheinlicher, dass Patienten, die Anti-ADL-Antikörper entwickeln, nicht auf die Therapie ansprechen, während Patienten mit therapeutischen Wirkstoffspiegeln eher ein adäquates klinisches Ansprechen auf die ADL-Therapie bei RA und IBD (entzündliche Darmerkrankung) zeigen.

##### 3. TESTPRINZIP

Das Testmodul Chorus Promonitor® Adalimumab ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Adalimumab (ADL) in Humanserum im Laboranalysator Chorus TRIO.

Der Test basiert auf einem „Sandwich“-ELISA-Verfahren.

Die Vertiefungen der Mikroplatten sind mit einem humanen monoklonalen Anti-ADL-Antikörper vorbeschichtet. Kalibrator, Positivkontrolle und Proben kommen in ein separates Gerät.

ADL ist in der Lage, sich nach der Inkubation mit der Probe an das vorimmobilisierte Anti-ADL zu binden. Nach dem Waschen wird zum Entfernen der nicht gebundenen Probe ein HRP-markierter Anti-ADL-Antikörper (Konjugat) zugegeben. Im zweiten Inkubationsschritt kann sich das Konjugat an das ADL binden, das an den Vertiefungen der Mikroplatte haftet. Monoklonale Antikörper gegen ADL konkurrieren nicht mit TNF- $\alpha$  um die Bindung an das ADL. Nach dem Waschen wird Substrat für die Peroxidase zugegeben, um überschüssiges nicht gebundenes Konjugat zu entfernen. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe der Stopplösung, wodurch die Lösung gelb wird, gestoppt. Die sich entwickelnde Farbe ist proportional zur Menge des in der Patientenprobe vorhandenen Arzneimittels.

Die Einweg-Testmodule enthalten alle erforderlichen Reagenzien, um den Test nach Einlegen in den Chorus TRIO Laboranalysator durchführen zu können.

Die Ergebnisse werden in  $\mu\text{g/ml}$  ausgedrückt, berechnet in Anlehnung an den 1. Internationalen Standard für Adalimumab (NIBSC-Code: 16/236).

##### 4. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

#### AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT

Dieser Testsatz enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die auf das Vorhandensein von HbsAg und Antikörpern gegen HIV-1, HIV-2 und HCV getestet wurden und eine negative Reaktion zeigten. Da kein diagnostischer Test die Präsenz infektiöser Stoffe vollständig ausschließen kann, muss jedes Material humanen Ursprungs als potentiell infektiös betrachtet werden. Befolgen Sie alle Vorsichtsmaßnahmen, die normalerweise in der Laborpraxis beim Umgang mit Materialien menschlichen Ursprungs getroffen werden.

**Entsorgung der Abfälle:** Die Serumproben, Kalibratoren und gebrauchten Streifen müssen als infektiöser Abfall behandelt und unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

#### Gesundheits- und Sicherheitsinformationen

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den Chorus TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte das Sicherheitsblatt (auf Anfrage erhältlich).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Zur Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion kann eine 30-minütige Exposition gegenüber 1 % Natriumhypochlorit erforderlich sein.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen



der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn Säure in der verschütteten Flüssigkeit enthalten ist, wischen Sie den verschmutzten Bereich ab, bevor Sie Natriumhypochlorit verwenden. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

### **Warnhinweise zur Analyse**

Bringen Sie die zu verwendenden Testmodule vor Gebrauch mindestens 30 Minuten lang auf Raumtemperatur (18–30 °C) und verwenden Sie sie innerhalb von 60 Minuten.

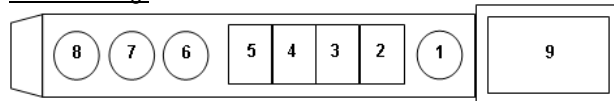
1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 2) aussortieren.
2. Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
3. Kontrollieren Sie, ob die Reagenzien im Testmodul enthalten sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem Chorus TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.  
**Die Nutzung des Testmoduls ist nur mit CHORUS TRIO und einer aktualisierten Softwareversion möglich.** Stellen Sie sicher, dass es sich bei der auf dem Laboranalysator installierten Software um die Version (Rel.) handelt, die der auf der Diesse-Website veröffentlichten Tabelle entspricht oder höher ist (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren Sie, ob der Chorus TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Eventuelle unlesbare Codes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung).
9. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
10. Die Verwendung von stark hämolytierten, lipämischen, ikterischen Proben, von unvollständig koaguliertem Serum oder Proben mit mikrobieller Kontamination kann eine Fehlerquelle darstellen.
11. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
12. Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.

## **5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN**

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

**DD** TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



**Position 9:** Platz für Strichcode-Etikett

**Position 8:** VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

**Position 7:** MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit einem humanen monoklonalen Anti-ADL-Antikörper

**Position 6:** MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit einem humanen monoklonalen Anti-ADL-Antikörper

**Position 5:** STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

**Position 4:** KONJUGAT

HRP-markierter Anti-ADL-Antikörper und Puffer mit Konservierungsmittel

**Position 3:** VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

**Position 2:** TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin, stabilisiert in Citratpuffer

**Position 1:** LEERE VERTIEFUNG

für die Probe.

**Gebrauch:** Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurücklegen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

**CALIBRATOR** KALIBRATOR

1 x 0.400 ml

Inhalt: Humanserum mit ADL und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

**CONTROL+** POSITIVE KONTROLLE

1 x 1.100 ml

Inhalt: Humanserum mit ADL und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

### **WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL**

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Chorus TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- Natriumhypochlorit-Lösung (5 %)
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

## 6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Im Fall einer falschen Aufbewahrungstemperatur muss die Kalibrierung wiederholt und die Richtigkeit des Ergebnisses mit Hilfe des Kontrollserums überprüft werden (siehe Kapitel 9: Testvalidität).

Das Verfalldatum steht auf jeder Komponente und auf dem Etikett des Testsatzes.

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen eine begrenzte Stabilität:

|                    |                     |
|--------------------|---------------------|
| TESTMODULE         | 8 Wochen bei 2–8 °C |
| KALIBRATOR         | 8 Wochen bei 2–8 °C |
| POSITIVE KONTROLLE | 8 Wochen bei 2–8 °C |

## 7. SAMMLUNG UND LAGERUNG VON PROBEN

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine normale Punktion von Venen entnommen wurde und mit den für Standardlaborverfahren vorgeschriebenen Vorsichtsmaßnahmen behandelt wird.

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2–8 °C 4 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20 °C eingefroren.

Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden. Die Probe nach dem Auftauen und vor dem Assay sorgfältig durchmischen.

Es wird dringend empfohlen, eine intensive Bearbeitung der Proben zu vermeiden.

Eine Mikrobenkontamination kann die Qualität der Probe ernsthaft beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.

## 8. VORGEHENSWEISE

Der CHORUS Promonitor® Adalimumab Test (REF. 86700) kann gleichzeitig NUR mit den anderen CHORUS Promonitor® Tests durchgeführt werden.

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.
2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung 1 jedes Testmoduls geben:

|                    |                  |
|--------------------|------------------|
| PROBE              | 50 µl/Testmodul  |
| KALIBRATOR         | 130 µl/Testmodul |
| POSITIVE KONTROLLE | 130 µl/Testmodul |

4. Die Testmodule in den Chorus TRIO Laboranalysator einsetzen. Die Kalibrierung (sofern erforderlich) und den Test gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators durchführen.

## 9. TESTVALIDIERUNG

Zur Überprüfung der Richtigkeit der Testergebnisse die positive Kontrolle verwenden. Sie wird gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators eingesetzt. Wenn der Analysator für die positive Kontrolle einen Wert außerhalb des akzeptablen Bereichs anzeigt, muss die Kalibrierung wiederholt werden. Die vorhergehenden Ergebnisse werden dann automatisch korrigiert.

Wenn das Ergebnis der positiven Kontrolle weiterhin außerhalb des akzeptablen Bereichs liegt, kontaktieren Sie bitte den Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
E-Mail: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Chorus TRIO Laboranalysator liefert das Ergebnis in µg/ml, die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: wenn das Ergebnis  $\geq 0.30$  µg/ml ist

NEGATIV: wenn das Ergebnis  $< 0.30$  µg/ml ist

## 11. GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Es sollten die ADL-Talspiegel gemessen werden. Der optimale Zeitpunkt für die Probenahme ist unmittelbar vor der ADL-Injektion.
2. Dieser Test misst das freie ADL. Obwohl er TNF- $\alpha$ -gebundenes ADL nachweisen kann, ist dieser Beitrag vernachlässigbar, da die Konzentration von zirkulierendem TNF- $\alpha$  in der Größenordnung von Pikogramm pro Milliliter liegt.
3. Dieser Test misst kein ADL, das an Anti-ADL (Immunkomplex)-Antikörper gebunden ist, die möglicherweise vom Patienten aufgrund der Immunogenität des Arzneimittels entwickelt wurden.
4. Dieser Test ist weder als Diagnosehilfe noch als begleitender diagnostischer Test gedacht. Der Arzt muss die Testergebnisse unter Berücksichtigung anderer Variablen wie dem Probennahmefenster, der Methodik, den Anti-ADL-Antikörpern und anderen klinischen Befunden wie der Krankheitsaktivität interpretieren.
5. Obwohl bestätigt wurde, dass der Assay mit Plasma funktioniert, wurden die Leistungsmerkmale des Assays auf anderen Matrizien als Serum nicht ermittelt.
6. Dieses Produkt darf nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden, das angemessenen geschult wurde.

## 12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 0.30–55.0 µg/ml

Bei Proben  $> 55$  µg/ml den Test wiederholen und die Probe zuvor mit Negativer Kontrolle/Probenverdünnungsmedium (REF. 83607 - nicht im Testsatz enthalten) verdünnen.

## 13. REFERENZBEREICH

In der Normalbevölkerung sind die Erwartungswerte, ermittelt durch die Untersuchung von 120 Seren gesunder Spender, mit Werten  $< 0.30$  µg/ml negativ.

#### 14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

Es wurden 3 Proben (1 negative, 1 schwach positive und 1 stark positive) getestet, denen folgende Interferenten beigelegt wurden:

Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)  
Triglyceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)  
Hämoglobin (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

Die Präsenz der oben aufgeführten Störsubstanzen (mit Ausnahme von Hämoglobin) in der Serumprobe verändert das Testergebnis nicht.

#### 15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 15 Proben getestet, die kein ADL, jedoch IFX - 5 Proben (11.2–48.4 µg/ml), ETN - 5 Proben (10.0 µg/ml) und HAMA - 5 Proben (38–86 ng/ml) in unterschiedlichen Konzentrationen enthielten.

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

#### 16. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 153 Proben mit dem Testsatz von Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

|        |           | Referenz |     |           |
|--------|-----------|----------|-----|-----------|
|        |           | +        | -   | Insgesamt |
| Diesse | +         | 47       | 0   | 47        |
|        | -         | 0        | 106 | 106       |
|        | Insgesamt | 47       | 106 | 153       |

Positive Übereinstimmungsrate (~ diagnostische Sensitivität):

100.0 % KI<sub>95</sub> %: 92.4–99.9

Negative Übereinstimmungsrate: (~ diagnostische Spezifität):

100.0 % KI<sub>95</sub> %: 96.5–100.0

Positiver Vorhersagewert (PPV): 100.0 % KI<sub>95</sub> %: 100.0–100.0

Negativer Vorhersagewert (NPV): 100.0 % KI<sub>95</sub> %: 100.0–100.0

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 1 optimal.

Von den 153 Proben wurde die Korrelation zwischen dem Diesse-Testsatz und einem anderen auf dem Markt erhältlichen Testsatz an 47 positiven Proben getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

| Korrelation | r    | 95 % KI   |
|-------------|------|-----------|
| Pearson     | 0.97 | 0.94–0.98 |
| Spearman    | 0.97 | 0.95–0.99 |

Die Korrelation zwischen den beiden Methoden ist sehr hoch.

#### 17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

| Probe | Innerhalb eines Durchlaufs |      | Zwischen Durchläufen |      |
|-------|----------------------------|------|----------------------|------|
|       | Mittelwert (µg/ml)         | VK % | Mittelwert (µg/ml)   | VK % |
| 1     | 16.1                       | 7.0  | 16.7                 | 6.5  |
| 2     | 9.4                        | 3.7  | 9.1                  | 3.8  |
| 3     | 3.9                        | 5.4  | 3.9                  | 7.4  |
| 4     | 0.47                       | 12.8 | 0.47                 | 10.6 |
| 5     | 0.30                       | -    | 0.30                 | -    |
| 6     | 0.30                       | -    | 0.30                 | -    |

| Probe | Zwischen Chargen   |      | Zwischen Analysatoren |      |
|-------|--------------------|------|-----------------------|------|
|       | Mittelwert (µg/ml) | VK % | Mittelwert (µg/ml)    | VK % |
| 1     | 19.7               | 3.8  | 17.5                  | 13.9 |
| 2     | 9.3                | 6.8  | 8.8                   | 12.8 |
| 3     | 5.1                | 6.7  | 4.0                   | 12.8 |
| 4     | 0.50               | 6.0  | 0.46                  | 13.0 |
| 5     | 0.30               | -    | 0.30                  | -    |
| 6     | 0.30               | -    | 0.30                  | -    |

#### 18. LITERATUR

- Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014
- Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
- Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
- Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
- Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010;146:127-132.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
Strada dei Laghi, 39  
53035 Monteriggioni (SIENA)  
Italia





## INSTRUCCIONES DE USO

### CHORUS Promonitor® Adalimumab

#### Para la determinación cuantitativa de Adalimumab (ADL) en suero humano

#### Solo para uso diagnóstico *in vitro*

##### 1. INDICACIONES

Chorus Promonitor® Adalimumab es un kit de inmunoensayo para la determinación cuantitativa automatizada de Adalimumab (ADL) en suero humano con dispositivo desechable aplicado al equipo Chorus TRIO. Utilizado en combinación con otros resultados clínicos y de laboratorio, el producto es útil como ayuda en la gestión de los pacientes tratados con Adalimumab (ADL), como los pacientes con afecciones reumáticas y gastrointestinales. Para uso exclusivo de técnicos de laboratorio profesionales.

##### 2. INTRODUCCIÓN

Adalimumab (ADL) es un anticuerpo monoclonal humano recombinante producido en células de ovario de hámster chino (CHO) que se utilizan en el tratamiento de afecciones inflamatorias. Entre estas afecciones figuran la artritis reumatoide (AR), la artritis idiopática juvenil poliarticular (AIJ), la artritis psoriásica (AP), la espondilitis anquilosante (EA), la enfermedad de Crohn (EC) y la psoriasis (PsO). El ADL es un fármaco biológico inmunomodulador que se une al TNF- $\alpha$ , una citoquina que desempeña un papel importante en la patogénesis de estas enfermedades, inhibe la unión con su receptor y previene el inicio de la cascada inflamatoria. Al igual que otros fármacos biológicos, el ADL puede dar lugar al desarrollo de anticuerpos antidrogas (ADA). Los estudios confirman una correlación inversa significativa entre la biodisponibilidad de ADL y la presencia de ADA. La respuesta clínica al ADL está estrechamente relacionada con los niveles mínimos del fármaco y la presencia de ADA. Se ha demostrado que la inmunogenicidad del ADL está asociada con la pérdida de respuesta clínica en la AR, la EC y la PsO. Además, los pacientes que desarrollan anticuerpos anti-ADL tienen más probabilidades de no responder a la terapia, mientras que los pacientes con niveles terapéuticos del fármaco tienen más probabilidades de mostrar una respuesta clínica adecuada a la terapia con ADL en la AR y la EII (enfermedad inflamatoria intestinal).

##### 3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo Chorus Promonitor® Adalimumab está listo para su uso para la determinación de Adalimumab (ADL) en suero humano, en el equipo Chorus TRIO.

La prueba se basa en un método ELISA «sándwich». Los pocillos de las microplacas están recubiertos previamente con un anticuerpo monoclonal humano anti-ADL. El calibrador, el

control positivo y las muestras se añaden a un dispositivo separado.

El ADL puede unirse al anti-ADL preinmovilizado tras la incubación con la muestra. Tras el lavado para eliminar la muestra no unida, se añade un anticuerpo anti-ADL marcado con HRP (conjugado). Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una al ADL que se ha adherido a los pocillos de la microplaca. Los anticuerpos monoclonales contra el ADL no compiten con el TNF- $\alpha$  por la unión al ADL. Tras el lavado para eliminar el exceso de conjugado que no se ha unido, se añade el sustrato para peroxidasa. La reacción enzimática se detiene añadiendo la solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo. El color que aparece es proporcional a la cantidad de fármaco presente en la muestra del paciente.

Los productos de un solo uso contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con el equipo Chorus TRIO. Los resultados se expresan en  $\mu\text{g/ml}$  calculados con referencia al 1er Estándar Internacional para Adalimumab (código NIBSC: 16/236).

##### 4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

#### SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y han dado una respuesta negativa a la presencia de HbsAg y de anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una garantía completa sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Al manipular material de origen humano se deben seguir todas las precauciones dictadas por las buenas prácticas de laboratorio.

**Eliminación de residuos:** las muestras de suero, los calibradores y las tiras reactivas que se han usado deben considerarse residuos infecciosos y se deben desechar conforme a lo establecido en la legislación vigente.

#### Información sobre salud y seguridad

1. No utilizar la pipeta con la boca.
2. Usar guantes desechables y protección para los ojos para manipular las muestras.
3. Lavarse minuciosamente las manos después de introducir los dispositivos en el equipo Chorus TRIO.
4. Consultar las características de seguridad de los reactivos del kit en la Ficha de Seguridad (disponible a solicitud).
5. Para desinfectar los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos, añadir una cantidad de hipoclorito de sodio suficiente para preparar una solución con concentración mínima del 1 %. Para garantizar una desinfección eficaz podría ser necesaria una exposición de 30 minutos a hipoclorito de sodio al 1%.
6. El material potencialmente contaminado que se derrame deberá eliminarse de inmediato con papel absorbente y la zona contaminada deberá descontaminarse antes de seguir trabajando, por ejemplo, con una solución de hipoclorito de sodio al 1 %. Si el material derramado contiene un ácido, secar el área contaminada antes de usar el hipoclorito de sodio. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido

derrames, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

#### Advertencias relacionadas con el análisis

Antes del uso, dejar los dispositivos que se vayan a utilizar a temperatura ambiente (18-30 °C) durante al menos 30 minutos y utilizarlos en los 60 minutos siguientes.

1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de algún reactivo o la presencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción cuando se inspeccionan visualmente.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.

**El kit solo se puede utilizar con CHORUS TRIO con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión (Rel.) del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que se puede consultar en el sitio web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)**

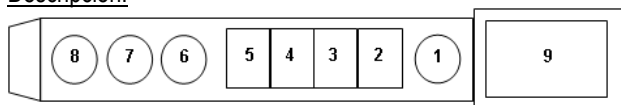
5. Comprobar que el equipo Chorus TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo correctamente.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario).
9. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
10. El uso de muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, de suero no coagulado completamente o de muestras que presentan contaminación microbiana puede ser fuente de error.
11. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
12. **Comprobar que el equipo esté conectado al Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

#### 5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

El contenido del kit es suficiente para realizar 36 determinaciones.

**DD** DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



**Posición 9:** Espacio disponible para etiqueta con código de barras

#### Posición 8: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

#### Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con un anticuerpo monoclonal humano anti-ADL

#### Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con un anticuerpo monoclonal humano anti-ADL

#### Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: solución de ácido sulfúrico 0,3 M

#### Posición 4: CONJUGADO

Anticuerpo anti-ADL marcado con HRP y tampón que contiene conservante

#### Posición 3: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

#### Posición 2: SUSTRATO TMB

Contenido: tetrametilbencidina estabilizada en tampón citrato

#### Posición 1: POCILLO VACÍO

donde se debe transferir la muestra.

**Uso: dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente,** abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2/8 °C.

**CALIBRATOR** CALIBRADOR 1 x 0.400 ml  
Contenido: suero humano que contiene ADL y conservante.  
Líquido, listo para su uso.

**CONTROL +** CONTROL POSITIVO 1 x 1.100 ml  
Contenido: suero humano que contiene ADL y conservante.  
Líquido, listo para su uso.

#### OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF.] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF.] 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF.] 83607
- Equipo Chorus TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5 %)
- Recipientes para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

#### 6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es correcto mediante el suero de control (ver el capítulo 9: Validación de la prueba).

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta del kit.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada una vez que se abren:

|                  |                    |
|------------------|--------------------|
| DISPOSITIVOS     | 8 semanas a 2/8 °C |
| CALIBRADOR       | 8 semanas a 2/8 °C |
| CONTROL POSITIVO | 8 semanas a 2/8 °C |

## 7. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

La muestra consiste en suero obtenido de sangre extraída de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo las precauciones dictadas por los procedimientos estándar de laboratorio.

No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 4 días; para conservaciones más largas congelar a -20 °C.

Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

Se recomienda encarecidamente evitar cualquier procesamiento agresivo de las muestras.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

## 8. PROCEDIMIENTO

**La prueba CHORUS Promonitor® Adalimumab (REF. 86700) se puede realizar simultáneamente SOLO con otras pruebas CHORUS Promonitor®.**

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los demás en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4, "Precauciones".
3. Dispensar en el pocillo n°1 de cada dispositivo:

|                  |                    |
|------------------|--------------------|
| MUESTRA          | 50 µl/dispositivo  |
| CALIBRADOR       | 130 µl/dispositivo |
| CONTROL POSITIVO | 130 µl/dispositivo |

4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus TRIO. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario del equipo.

## 9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el control positivo para verificar la validez de los resultados obtenidos, procesándolo según las indicaciones del Manual del Usuario del equipo. Si el equipo indica que el control positivo tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario repetir la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del control positivo continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel.: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
e-mail: scientificsupport@diesse.it

## 10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El equipo Chorus TRIO calcula el resultado en función de un gráfico por lotes guardado en su memoria y proporciona el resultado en µg/ml.

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es  $\geq 0.30$  µg/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es  $< 0.30$  µg/ml

## 11. LIMITACIONES

7. Deben medirse los niveles mínimos de ADL. El momento óptimo para el muestreo es inmediatamente antes de la inyección ADL.
8. Esta prueba mide el ADL libre. Aunque puede detectar el ADL unido a TNF- $\alpha$ , esta contribución es insignificante, ya que la concentración de TNF- $\alpha$  circulante es del orden de picogramos por mililitro.
9. Esta prueba no mide el ADL unido a los anticuerpos anti-ADL (inmunocomplejos) que puede haber desarrollado el paciente debido a la inmunogenicidad del fármaco.
10. Esta prueba no está destinada a ser utilizada como ayuda en el diagnóstico, ni como prueba diagnóstica complementaria. El médico debe interpretar los resultados de la prueba teniendo en cuenta otras variables como la ventana de muestreo, la metodología, los anticuerpos anti-ADL y otros resultados clínicos como la actividad de la enfermedad.
11. Aunque se ha confirmado que el ensayo funciona con plasma, las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para matrices distintas del suero.
12. Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal de laboratorio profesional que haya recibido una formación adecuada.

## 12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 0.30-55.0 µg/ml

Para las muestras  $> 55$  µg/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

## 13. RANGO DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante el análisis de 120 sueros de donantes sanos, son negativos con valores  $< 0.30$  µg/ml.

## 14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

Se analizaron 3 muestras (1 Negativa, 1 Positiva baja y 1 Positiva alta) a las que se añadieron los interferentes siguientes:

Bilirrubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)  
Triglicéridos (250 mg/dl – 1500 mg/dl)  
Hemoglobina (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

La presencia de las sustancias mencionadas anteriormente (a excepción de la hemoglobina) en la muestra de suero no altera el resultado de la prueba.

## 15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 15 muestras que no contenían ADL, pero que contenían distintas concentraciones de IFX – 5 muestras (11.2 – 48.4 µg/ml), ETN – 5 muestras (10.0 µg/ml) y HAMA – 5 muestras (38 – 86 ng/ml).

No se encontraron reacciones cruzadas.

## 16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 153 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

| Diesse |   | Referencia |     |       |
|--------|---|------------|-----|-------|
|        |   | +          | -   | Total |
|        | + | 47         | 0   | 47    |
|        | - | 0          | 106 | 106   |
| Total  |   | 47         | 106 | 153   |

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100.0 % IC<sub>95%</sub>: 92.4-99.9

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

100.0 % IC<sub>95%</sub>: 96.5-100.0

Valor predictivo positivo (VPP): 100.0 % IC<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

Valor predictivo negativo (VPN): 100.0 % IC<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

El grado de concordancia entre ambos métodos es óptimo con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 1.

De las 153 muestras. se probó en 47 muestras positivas la correlación entre el kit Diesse y otro kit comercial.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

| Correlación | r    | IC del 95 % |
|-------------|------|-------------|
| Pearson     | 0.97 | 0.94-0.98   |
| Spearman    | 0.97 | 0.95-0.99   |

La correlación entre los dos métodos es muy alta.

## 17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

| Muestra | Intra-ensayo  |      | Entre ensayos |      |
|---------|---------------|------|---------------|------|
|         | Media (µg/ml) | CV % | Media (µg/ml) | CV % |
| 1       | 16.1          | 7.0  | 16.7          | 6.5  |
| 2       | 9.4           | 3.7  | 9.1           | 3.8  |
| 3       | 3.9           | 5.4  | 3.9           | 7.4  |
| 4       | 0.47          | 12.8 | 0.47          | 10.6 |
| 5       | 0.30          | -    | 0.30          | -    |
| 6       | 0.30          | -    | 0.30          | -    |

| Muestra | Entre lotes   |      | Entre equipos |      |
|---------|---------------|------|---------------|------|
|         | Media (µg/ml) | CV % | Media (µg/ml) | CV % |
| 1       | 19.7          | 3.8  | 17.5          | 13.9 |
| 2       | 9.3           | 6.8  | 8.8           | 12.8 |
| 3       | 5.1           | 6.7  | 4.0           | 12.8 |
| 4       | 0.50          | 6.0  | 0.46          | 13.0 |
| 5       | 0.30          | -    | 0.30          | -    |
| 6       | 0.30          | -    | 0.30          | -    |

## 18. BIBLIOGRAFÍA

- Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014
- Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
- Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
- Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
- Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010,146:127-132.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
Strada dei Laghi, 39  
53035 Monteriggioni (SIENA)  
Italia







## MODE D'EMPLOI

### **CHORUS Promonitor® Adalimumab**

#### **Pour la détermination quantitative de l'Adalimumab (ADL) dans le sérum humain**

#### **Uniquement pour diagnostic *in vitro***

##### **1. UTILISATION**

Chorus Promonitor® Adalimumab est un kit de dosage immunologique pour la détermination quantitative automatisée de l'Adalimumab (ADL) dans le sérum humain avec un dispositif jetable appliqué à l'instrument Chorus TRIO.

Le produit, utilisé conjointement à d'autres résultats cliniques et résultats de laboratoire, est utile pour faciliter la prise en charge des patients traités à l'Adalimumab (ADL), tels que les patients souffrant de pathologies rhumatismales et gastro-intestinales.

Il doit être utilisé exclusivement par des techniciens de laboratoire professionnels.

##### **2. INTRODUCTION**

L'Adalimumab (ADL) est un anticorps monoclonal humain recombinant produit dans des cellules d'ovaire de hamster chinois (CHO) utilisé dans le traitement des pathologies inflammatoires. Ces pathologies incluent la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire (AJI), le rhumatisme psoriasique (RP), la spondylarthrite ankylosante (SA), la maladie de Crohn (MC) et le psoriasis (PsO). L'ADL est un médicament biologique immunomodulateur qui lie le TNF- $\alpha$ , une cytokine qui joue un rôle important dans la pathogenèse de ces maladies, il inhibe le lien avec son récepteur et prévient l'enclenchement de la cascade inflammatoire. Comme d'autres médicaments biologiques, l'ADL peut conduire au développement d'anticorps anti-médicaments (ADA). Des études confirment une corrélation inverse significative entre la biodisponibilité de l'ADL et la présence d'ADA. La réponse clinique à l'ADL est étroitement liée aux concentrations minimales du médicament et à la présence d'ADA. Il a été démontré que l'immunogénicité de l'ADL est associée à une perte de réponse clinique dans la PR, la MC et la PsO. De plus, les patients qui développent des anticorps anti-ADL sont davantage susceptibles de ne pas répondre au traitement, tandis que les patients qui présentent des niveaux thérapeutiques de médicament sont quant à eux davantage susceptibles de présenter une réponse clinique adéquate au traitement à l'ADL dans la PR et les MII (maladie intestinale inflammatoire).

##### **3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE**

Le dispositif Chorus Promonitor® Adalimumab est prêt à l'emploi pour la détermination de l'Adalimumab (ADL) dans le sérum humain, en utilisant l'instrument Chorus TRIO.

Le test est basé sur une méthode ELISA en «sandwich».

Les puits des microplaques sont pré-revêtus d'un anticorps monoclonal humain anti-ADL. Le calibre, le contrôle positif et les échantillons sont ajoutés à un dispositif séparé.

L'ADL est en mesure de se lier à l'anti-ADL pré-immobilisé après incubation avec l'échantillon. Après lavage pour éliminer l'échantillon non lié, un anticorps anti-ADL marqué avec HRP (conjugué) est ajouté. Une deuxième phase d'incubation permet au conjugué de se lier à l'ADL qui a adhéré aux puits de la microplaque. Les anticorps monoclonaux anti-ADL n'entrent pas en compétition avec le TNF- $\alpha$  pour se lier à l'ADL. Après lavage pour éliminer l'excès de conjugué non lié, le substrat de peroxydase est ajouté. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt, ce qui fait virer la solution au jaune. La couleur qui se développe est proportionnelle à la quantité de médicament présente dans l'échantillon du patient.

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs pour effectuer le test lorsqu'ils sont appliqués au dispositif Chorus TRIO.

Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g/ml}$  calculés en référence au 1er Standard International pour l'Adalimumab (code NIBSC : 16/236).

##### **4. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS**

###### **UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO***

Ce coffret contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et qui ont fourni une réponse négative à la recherche de l'HbsAg et des anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostique ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, toute matière d'origine humaine doit être considérée comme potentiellement infectée. Suivre toutes les précautions normalement adoptées dans les pratiques de laboratoire lors de la manipulation de matériel d'origine humaine.

**Élimination des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des déchets infectieux et doivent être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.**

###### **Informations sur la santé et la sécurité**

1. Ne pas pipéter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'instrument Chorus TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur demande) pour connaître les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit.
5. Les acides neutralisés et autres déchets liquides doivent être désinfectés en ajoutant de l'hypochlorite de sodium à un volume suffisant pour atteindre une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition de 30 minutes à 1 % d'hypochlorite de sodium peut être nécessaire pour assurer une désinfection efficace.
6. En cas de déversement accidentel de matières potentiellement infectées, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de

sodium (1 %), avant de continuer le travail. Si de l'acide est présent dans le déversement, essuyer la zone souillée avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones souillées par d'éventuels déversements accidentels doit être éliminé comme déchets potentiellement infectieux. Ne pas mettre de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium en autoclave.

### Précautions analytiques

Avant utilisation, porter les appareils à utiliser à température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes et les utiliser dans les 60 minutes.

1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 2) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif ; ne pas utiliser les dispositifs dans lesquels, après contrôle visuel, un quelconque réactif serait manquant et/ou dans lesquels des corps étrangers seraient présents dans le puits de réaction.
4. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus TRIO, en suivant scrupuleusement les instructions d'utilisation et le manuel d'utilisation de l'instrument.

**L'utilisation du kit n'est possible qu'avec CHORUS TRIO avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que le logiciel installé sur l'instrument est une version (Rel.) correspondant ou postérieure à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)**

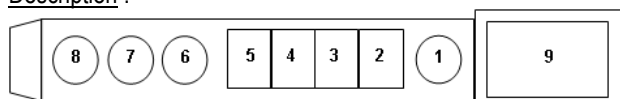
5. S'assurer que l'analyseur Chorus TRIO est correctement réglé (voir le Manuel d'utilisation).
6. Ne pas modifier le code-barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'instrument puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Les éventuels codes-barres défectueux peuvent être saisis manuellement dans l'analyseur (voir Manuel d'utilisation).
9. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage intense ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
10. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, lipémiques et ictériques, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une contamination microbienne peut constituer une source d'erreur.
11. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
12. **S'assurer que l'instrument est relié au Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

### 5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations.

**DD** DISPOSITIFS 6 conditionnements de 6 dispositifs chacun

Description :



**Position 9** : Emplacement disponible pour l'étiquette avec code à barres

**Position 8** : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

**Position 7** : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Recouvert d'un anticorps monoclonal humain anti-ADL

**Position 6** : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Recouvert d'un anticorps monoclonal humain anti-ADL

**Position 5** : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

**Position 4** : CONJUGUÉ

Anticorps anti-ADL marqué avec HRP et tampon contenant un conservateur

**Position 3** : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

**Position 2** : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine stabilisé dans un tampon citrate

**Position 1** : PUIITS VIDE

dans lequel l'échantillon doit être transféré.

**Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante,**

ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires et replacer ceux qui ne sont pas utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice ; chasser l'air et fermer **hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

**CALIBRATOR** CALIBREUR

1 x 0.400 ml

Contenu : sérum humain contenant de l'ADL et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

**CONTROL +** CONTRÔLE POSITIF

1 x 1.100 ml

Contenu : sérum humain contenant de l'ADL et un conservateur. Liquide, prêt à l'emploi.

### AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Analyseur Chorus TRIO
- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre standard : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes en mesure de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µl
- Gants jetables
- Solution d'hypochlorite de sodium (5 %)
- Récipients de collecte des matières potentiellement infectieuses

### 6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il est nécessaire de répéter le calibrage et de contrôler la fiabilité du résultat à l'aide de sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette du kit.

## Les réactifs offrent une stabilité limitée après ouverture :

|                  |                     |
|------------------|---------------------|
| DISPOSITIFS      | 8 semaines à 2/8 °C |
| CALIBREUR        | 8 semaines à 2/8 °C |
| CONTRÔLE POSITIF | 8 semaines à 2/8 °C |

## 7. COLLECTE ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse dans le respect des précautions requises dans les procédures standards de laboratoire.

Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 4 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20 °C.

Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

Il est vivement recommandé d'éviter tout traitement intensif des échantillons.

La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence d'une contamination microbienne susceptible de fausser les résultats.

## 8. PROCÉDURE

**Le test CHORUS Promonitor® Adalimumab (RÉF. 86700) peut être effectué simultanément à d'autres tests, UNIQUEMENT s'il s'agit de tests CHORUS Promonitor®.**

- Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dispositifs dans le sachet après avoir chassé l'air.
- Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 Précautions analytiques.
- Dispenser dans le puits n°1 de chaque appareil :

|                  |                          |
|------------------|--------------------------|
| ÉCHANTILLON      | <b>50 µl/dispositif</b>  |
| CALIBRATEUR      | <b>130 µl/dispositif</b> |
| CONTRÔLE POSITIF | <b>130 µl/dispositif</b> |

- Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus TRIO. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instructions de l'instrument.

## 9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude des résultats obtenus, en le traitant comme indiqué dans le Manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le contrôle positif présente une valeur dépassant la limite d'acceptabilité, répéter le calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du contrôle dépasse encore les limites d'acceptabilité, contacter l'Assistance Scientifique.

Tél. 0039 0577 319554  
Télécopie : 0039 0577 366605  
email : scientificsupport@diessie.it

## 10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'analyseur Chorus TRIO fournit le résultat en µg/ml calculés sur la base d'un graphique basé sur le lot mémorisé dans l'instrument.

Le test sur le sérum analysé peut être interprété comme suit :

POSITIF : quand le résultat est  $\geq 0.30$  µg/ml

NÉGATIF : quand le résultat est  $< 0.30$  µg/ml

## 11. LIMITES

- Les niveaux minimum d'ADL doivent être mesurés. Il est optimal de prélever l'échantillon juste avant l'injection d'ADL.
- Ce test mesure l'ADL libre. Bien qu'il puisse détecter l'ADL lié au TNF- $\alpha$ , cette donnée est négligeable puisque la concentration de TNF- $\alpha$  circulant est de l'ordre du picogramme par millilitre.
- Ce test ne mesure pas l'ADL lié aux anticorps anti-ADL (complexes immuns) qui peuvent avoir été développés par le patient en raison de l'immunogénicité du médicament.
- Ce test n'est pas destiné à être utilisé comme aide au diagnostic, ni comme test de diagnostic d'accompagnement. Le médecin doit interpréter les résultats du test en tenant compte d'autres variables telles que la fenêtre d'échantillonnage, la méthodologie, les anticorps anti-ADL et autres résultats cliniques tels que l'activité de la pathologie.
- Bien qu'il ait été confirmé que le test fonctionne avec le plasma, les caractéristiques de performance du test sur des matrices autres que le sérum n'ont pas été établies.
- Ce produit doit être utilisé exclusivement par un personnel de laboratoire professionnel ayant reçu une formation adéquate.

## 12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 0.30-55.0 µg/ml

Pour les échantillons  $>55$  µg/ml. répéter le test en diluant l'échantillon dans un diluant de contrôle/échantillon négatif (RÉF. 83607- non fourni avec le kit).

## 13. PLAGE DE RÉFÉRENCE

Dans la population normale, les valeurs attendues dans la population normale, déterminées en testant 120 sérums de donneurs sains, sont négatives avec les valeurs  $<0.30$  µg/ml.

## 14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

3 échantillons ont été dosés (1 négatif. 1 faiblement positif et 1 positif) auxquels ont été ajoutés les substances interférentes suivantes :

Bilirubine (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)  
Triglycérides (250 mg/dl - 1500 mg/dl)  
Hémoglobine (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

La présence dans l'échantillon de sérum des substances interférentes ci-dessus (à l'exception de l'hémoglobine) n'altère pas le résultat du test.

## 15. RÉACTIONS CROISÉES

15 échantillons ont été testés. ne contenant pas d'ADL mais contenant diverses concentrations d'IFX - 5 échantillons (11.2 -

48.4 µg/ml). ETN - 5 échantillons (10.0 µg/ml) et HAMA - 5 échantillons (38 - 86 ng/ml).

Aucune réaction croisée n'a été observée.

## 16. ÉTUDES COMPARATIVES

Au cours d'une expérimentation, 153 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et avec un autre kit commercial. Les données figurent dans le tableau suivant :

|        |       | Référence |     |       |
|--------|-------|-----------|-----|-------|
|        |       | +         | -   | Total |
|        |       |           |     |       |
| Diesse | +     | 47        | 0   | 47    |
|        | -     | 0         | 106 | 106   |
|        | Total | 47        | 106 | 153   |

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) :

100.0 % IC<sub>95%</sub> : 92.4-99.9

Taux de concordance négative (~ spécificité diagnostique) :

100.0 % IC<sub>95%</sub> : 96.5-100.0

Valeur prédictive positive (PPV) : 100.0 % IC<sub>95%</sub> : 100.0-100.0

Valeur prédictive négative (NPV) : 100.0 % IC<sub>95%</sub> : 100.0-100.0

Le degré de concordance entre les deux méthodes est optimal avec un coefficient K (coefficient de Cohen) de 1.

Sur les 153 échantillons, la corrélation entre le kit Diesse et un autre kit disponible sur le marché a été testée sur 47 échantillons positifs.

Les données figurent dans le tableau suivant :

| Corrélation | r    | IC 95%    |
|-------------|------|-----------|
| Pearson     | 0.97 | 0.94-0.98 |
| Spearman    | 0.97 | 0.95-0.99 |

La corrélation entre les deux méthodes est très élevée.

## 17. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

| Échantillon | Intra-séance    |      | Entre les séances |      |
|-------------|-----------------|------|-------------------|------|
|             | Moyenne (µg/ml) | CV % | Moyenne (µg/ml)   | CV % |
| 1           | 16.1            | 7.0  | 16.7              | 6.5  |
| 2           | 9.4             | 3.7  | 9.1               | 3.8  |
| 3           | 3.9             | 5.4  | 3.9               | 7.4  |
| 4           | 0.47            | 12.8 | 0.47              | 10.6 |
| 5           | 0.30            | -    | 0.30              | -    |
| 6           | 0.30            | -    | 0.30              | -    |

| Échantillon | Entre les lots  |      | Entre les analyseurs |      |
|-------------|-----------------|------|----------------------|------|
|             | Moyenne (µg/ml) | CV % | Moyenne (µg/ml)      | CV % |
| 1           | 19.7            | 3.8  | 17.5                 | 13.9 |
| 2           | 9.3             | 6.8  | 8.8                  | 12.8 |
| 3           | 5.1             | 6.7  | 4.0                  | 12.8 |
| 4           | 0.50            | 6.0  | 0.46                 | 13.0 |
| 5           | 0.30            | -    | 0.30                 | -    |
| 6           | 0.30            | -    | 0.30                 | -    |

## 18. BIBLIOGRAPHIE

- Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014
- Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
- Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
- Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
- Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010,146:127-132.



**DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.**  
Strada dei Laghi, 39  
53035 Monteriggioni (SIENA)  
Italia





## INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

### CHORUS Promonitor® Adalimumab

#### Para a determinação quantitativa de Adalimumab (ADL) em soro humano

#### Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

##### 1. UTILIZAÇÃO

Chorus Promonitor® Adalimumab é um kit de imunoensaio para a determinação quantitativa automatizada do Adalimumab (ADL) em soro humano com um dispositivo descartável ligado ao instrumento Chorus TRIO.

O produto, utilizado em combinação com outros resultados clínicos e laboratoriais, é útil como auxiliar na gestão de doentes tratados com Adalimumab (ADL), tais como doentes com patologias reumáticas e gastrointestinais. Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

##### 2. INTRODUÇÃO

O Adalimumab (ADL) é um anticorpo monoclonal humano recombinante produzido em células ovárias de hamster chinês (CHO) utilizado no tratamento de doenças inflamatórias. Estas doenças incluem artrite reumatóide (AR), artrite poliarticular idiopática juvenil (AIJ), artrite psoriásica (AP), espondilite anquilosante (EA), doença de Crohn (DC) e psoríase (PsO). O ADL é um medicamento biológico imunomodulador que liga o TNF- $\alpha$ , uma citocina que desempenha um papel importante na patogénese destas doenças, inibe a ligação ao seu recetor e evita o desencadeamento da cascata inflamatória. Tal como outros medicamentos biológicos, o ADL pode levar ao desenvolvimento de anticorpos anti-fármacos (ADA). Os estudos confirmam uma correlação inversa significativa entre a biodisponibilidade do ADL e a presença de ADA. A resposta clínica ao ADL está estreitamente relacionada com os níveis mínimos de fármacos e a presença da ADA. A imunogenicidade do ADL tem demonstrado estar associada à perda de resposta clínica na AR, DC e na PsO. Além disso, os doentes que desenvolvem anticorpos anti-ADL são mais propensos a não responder à terapia, enquanto os doentes com níveis terapêuticos de medicamentos são mais propensos a mostrar uma resposta clínica adequada à terapia com ADL na AR e DII (doença inflamatória intestinal).

##### 3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Promonitor® Adalimumab está pronto a ser utilizado para a determinação de Adalimumab (ADL) em soro humano, no instrumento Chorus TRIO.

O teste é baseado num método ELISA "sanduíche".

Os poços das microplacas são pré-revestidos com um anticorpo monoclonal humano anti-ADL. Calibrador, controlo positivo e amostras são adicionados a um dispositivo separado.

A ADL é capaz de se ligar ao anti-ADL pré-imobilizado após a incubação com a amostra. Após a lavagem para remover a amostra não ligada, é adicionado um anticorpo anti-ADL marcado com HRP (conjugado). Uma segunda fase de incubação permite que o conjugado se ligue ao ADL que aderiu aos poços da microplaca. Os anticorpos monoclonais contra a ADL não competem com a TNF- $\alpha$  para a ligação à ADL. Após a lavagem para remover o excesso de conjugado não ligado, é adicionado substrato para a peroxidase. A reação enzimática é interrompida pela adição da solução de paragem, que torna a solução amarela. A cor que se desenvolve é proporcional à quantidade de medicamento presente na amostra do doente. Os dispositivos de utilização única contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos Chorus TRIO.

Os resultados são expressos em  $\mu\text{g/ml}$ , calculados com referência à 1ª Norma Internacional para Adalimumab (código NIBSC): 16/236).

##### 4. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

###### APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e responderam negativamente à presença de HbsAg e DE anticorpos contra o HIV-1, HIV-2 e HCV. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infectado. Seguir todas as precauções normalmente adotadas na prática laboratorial ao manusear material de origem humana.

**Eliminação dos resíduos: amostras de soro, calibradores e tiras devem ser tratados como resíduos infectados e eliminados de acordo com a legislação em vigor.**

##### Informação sobre saúde e segurança

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento Chorus TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (disponível a pedido).
5. Ácidos neutralizados e outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter a concentração final de, pelo menos, 1%. Pode ser necessária uma exposição de 30 minutos a hipoclorito de sódio a 1% para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de material potencialmente infectado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se estiver presente ácido no derramamento, secar a área afetada antes de usar hipoclorito de sódio. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente



infetados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

### Advertências analíticas

Antes da utilização, levar os dispositivos a utilizar até à temperatura ambiente (18-30 °C) durante pelo menos 30 minutos e utilizá-los dentro de 60 minutos.

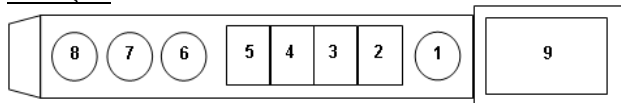
1. **Eliminar os dispositivos com substrato (poço 2) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento Chorus TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.  
**O kit só pode ser utilizado com CHORUS TRIO com uma versão atualizada do software. Assegurar que o software instalado no instrumento é uma versão (Rel.) correspondente ou posterior à apresentada na tabela publicada no website da Diesse**  
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras defeituosos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador).
9. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
10. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
11. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
12. **Verificar se o instrumento está ligado ao Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

### 5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

**DD** DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



**Posição 9:** Espaço disponível para rótulo com código de barras

**Posição 8:** TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

**Posição 7:** POÇO DE MICROPLACA

Revestido com um anticorpo monoclonal humano anti-ADL

**Posição 6:** POÇO DE MICROPLACA

Revestido com um anticorpo monoclonal humano anti-ADL

**Posição 5:** SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

**Posição 4:** CONJUGADO

Anticorpo anti-ADL marcado com HRP e tampão que contém conservante

**Posição 3:** TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

**Posição 2:** SUBSTRATO TMB

Tetrametilbenzidina estabilizada em tampão citrato

**Posição 1:** POÇO VAZIO

onde transferir a amostra.

**Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente**, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

**CALIBRATOR** CALIBRADOR 1 x 0.400 ml

Conteúdo: soro humano que contém ADL e conservante.

Líquido, pronto a usar.

**CONTROL +** CONTROLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Conteúdo: soro humano que contém ADL e conservante.

Líquido, pronto a usar.

### OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumento Chorus TRIO
- Água destilada ou desionizada
- Vidro normal de laboratório: provetas, tubos, etc..
- Micropipetas que permitam recolher rigorosamente volumes de 50-200 µl
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio (5%)
- Recipientes para recolher materiais potencialmente infetados

### 6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

O prazo de validade está impresso em cada componente e no rótulo do kit.

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

|                   |                    |
|-------------------|--------------------|
| DISPOSITIVOS      | 8 semanas a 2/8 °C |
| CALIBRADOR        | 8 semanas a 2/8 °C |
| CONTROLO POSITIVO | 8 semanas a 2/8 °C |

## 7. RECOLHA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

O tipo de amostra é representado por soro, obtido de sangue colhido por venipuntura e manuseado de acordo com as precauções constantes dos procedimentos laboratoriais normalizados.

Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 4 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

É fortemente recomendado evitar qualquer tratamento intensivo de amostras.

A qualidade das amostras pode ser gravemente influenciada pela contaminação microbiana, que pode gerar resultados errados.

## 8. PROCEDIMENTO

**O teste CHORUS Promonitor® Adalimumab (REF. 86700) pode ser realizado simultaneamente SOMENTE com os outros testes CHORUS Promonitor®.**

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Verificar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Deitar no poço nº1 de cada dispositivo:

|                   |                    |
|-------------------|--------------------|
| AMOSTRA           | 50 µl/dispositivo  |
| CALIBRADOR        | 130 µl/dispositivo |
| CONTROLO POSITIVO | 130 µl/dispositivo |

4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus TRIO. Efetuar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

## 9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o controlo positivo, para verificar a exatidão dos resultados obtidos, processando-o como indicado no Manual do Utilizador do instrumento. Se o instrumento indicar que o controlo positivo tem um valor fora do limite de aceitabilidade, é necessário repetir a calibração. Os resultados anteriores serão corrigidos automaticamente.

Se o resultado do controlo positivo continuar a estar fora do intervalo de aceitabilidade, contactar a Assistência Científica.

Tel: 0039 0577 319554  
Fax: 0039 0577 366605  
email: [scientificsupport@diesse.it](mailto:scientificsupport@diesse.it)

## 10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento Chorus TRIO fornece o resultado expresso em µg/ml calculado com base num gráfico dependente do lote memorizado no instrumento.

O teste do soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for  $\geq 0.30$  µg/ml

NEGATIVO: quando o resultado for  $<0.30$  µg/ml

## 11. LIMITAÇÕES

1. Deverão ser medidos os níveis mínimos de ADL. O tempo ideal para colher a amostra é imediatamente antes da injeção de ADL.
2. Este teste mede o ADL livre. Embora possa detetar o ADL ligado ao TNF- $\alpha$ , esta contribuição é insignificante, uma vez que a concentração de TNF- $\alpha$  em circulação é na ordem dos picogramas por mililitro.
3. Este teste não mede o ADL ligado a anticorpos anti-ADL (imunocomplexos) que possam ter sido desenvolvidos pelo doente devido à imunogenicidade do medicamento.
4. Este teste não se destina a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico, nem como um teste de diagnóstico de acompanhamento. O médico deve interpretar os resultados do teste no contexto de outras variáveis tais como janela de amostragem, metodologia, anticorpos anti-ADL e outros resultados clínicos tais como a atividade da doença.
5. Embora tenha sido confirmado que a dosagem funciona com o plasma, não foram definidas as características de desempenho da dosagem em matrizes diferentes do soro.
6. Este produto só deve ser utilizado por profissionais de laboratório que tenham recebido formação adequada.

## 12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 0.30-55.0 µg/ml

Para amostras  $> 55$  µg/ml repetir o teste diluindo a amostra com Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - não fornecido com o kit).

## 13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados pelo exame de 120 soros de doadores saudáveis, são negativos com valores entre  $<0.30$  µg/ml.

## 14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras (1 Negativa, 1 Pouco Positiva e 1 Altamente Positiva) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

Bilirrubina (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)  
Triglicéridos (250 mg/dl - 1500 mg/dl)  
Hemoglobina (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

A presença na amostra de soro das substâncias interferentes acima enumeradas (exceto a hemoglobina) não afeta o resultado do teste.

## 15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 15 amostras que não continham ADL mas com várias concentrações de IFX - 5 amostras (11.2 - 48.4 µg/ml). ETN - 5 amostras (10.0 µg/ml) e HAMA - 5 amostras (38 - 86 ng/ml).

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.



## 16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 153 amostras com um kit Diesse e com um outro kit disponível no mercado.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

| Diesse |       | Referência |     |       |
|--------|-------|------------|-----|-------|
|        |       | +          | -   | Total |
|        | +     | 47         | 0   | 47    |
|        | -     | 0          | 106 | 106   |
|        | Total | 47         | 106 | 153   |

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

100.0% IC<sub>95%</sub>: 92.4-99.9

Percentagem de concordância negativa: (~ especificidade de diagnóstico):

100.0% IC<sub>95%</sub>: 96.5-100.0

Valor Preditivo Positivo (VPP): 100.0% IC<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

Valor Preditivo Negativo (VPN): 100.0% IC<sub>95%</sub>: 100.0-100.0

O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 1.

Das 153 amostras, em 47 amostras positivas foi testada a correlação entre o kit Diesse e outro kit disponível no mercado.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

| Correlação | r    | IC 95%    |
|------------|------|-----------|
| Pearson    | 0.97 | 0.94-0.98 |
| Spearman   | 0.97 | 0.95-0.99 |

A correlação entre os dois métodos é muito elevada.

## 17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

| Amostra | Dentro da sessão |      | Entre sessões |      |
|---------|------------------|------|---------------|------|
|         | Média (µg/ml)    | CV%  | Média (µg/ml) | CV%  |
| 1       | 16.1             | 7.0  | 16.7          | 6.5  |
| 2       | 9.4              | 3.7  | 9.1           | 3.8  |
| 3       | 3.9              | 5.4  | 3.9           | 7.4  |
| 4       | 0.47             | 12.8 | 0.47          | 10.6 |
| 5       | 0.30             | -    | 0.30          | -    |
| 6       | 0.30             | -    | 0.30          | -    |

| Amostra | Entre lotes   |     | Entre instrumentos |      |
|---------|---------------|-----|--------------------|------|
|         | Média (µg/ml) | CV% | Média (µg/ml)      | CV%  |
| 1       | 19.7          | 3.8 | 17.5               | 13.9 |
| 2       | 9.3           | 6.8 | 8.8                | 12.8 |
| 3       | 5.1           | 6.7 | 4.0                | 12.8 |
| 4       | 0.50          | 6.0 | 0.46               | 13.0 |
| 5       | 0.30          | -   | 0.30               | -    |
| 6       | 0.30          | -   | 0.30               | -    |

## 18. BIBLIOGRAFIA

1. Chen, D. Y. et al "Significant associations of antidrug antibody levels with serum drug trough levels and therapeutic response of adalimumab and etanercept treatment in rheumatoid arthritis" Ann Rheum Dis 2014

2. Bartelds, G. M., et al "High levels of human anti-human antibodies to adalimumab in a patient not responding to adalimumab treatment" Ann.Rheum.Dis. 2006; 65:1249-1250.
3. Bartelds, G. M., et al "Clinical response to adalimumab: relationship to anti-adalimumab antibodies and serum adalimumab concentrations in rheumatoid arthritis" Ann.Rheum.Dis. 2007; 66:921-926.
4. Bartelds, G. M., et al "Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up". JAMA 2011; 305:1460-1468.
5. Lecluse, L. L., et al "Extent and clinical consequences of antibody formation against adalimumab in patients with plaque psoriasis" Arch.Dermatol. 2010;146:127-132.



**DIESE Diagnostica Senese S.p.A.**  
**Strada dei Laghi, 39**  
**53035 Monteriggioni (SIENA)**  
**Italia**



|                                                                                     |    |                                                |    |                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|----|------------------------------------------------|----|--------------------------------------------------|
|    | IT | Data di fabbricazione                          | ES | Fecha de fabricación                             |
|                                                                                     | EN | Date of manufacture                            | FR | Date de fabrication                              |
|                                                                                     | CZ | Datum výroby                                   | PT | Data de fabrico                                  |
|                                                                                     | DE | Herstellungsdatum                              | RO | Data fabricatiei                                 |
|                                                                                     | EL | Ημερομηνία Παραγωγής                           |    |                                                  |
|    | IT | Utilizzare entro                               | ES | Fecha de caducidad                               |
|                                                                                     | EN | Use By                                         | FR | Utiliser jusqu'à                                 |
|                                                                                     | CZ | Použitelné do                                  | PT | Prazo de validade                                |
|                                                                                     | DE | Verwendbar bis                                 | RO | A se folosi pana la                              |
|                                                                                     | EL | Ημερομηνία λήξης                               |    |                                                  |
|    | IT | Non riutilizzare                               | ES | No reutilizar                                    |
|                                                                                     | EN | Do not reuse                                   | FR | Ne pas réutiliser                                |
|                                                                                     | CZ | Nepoužívejte opakovaně                         | PT | Não reutilizar                                   |
|                                                                                     | DE | Nicht wieder verwenden                         | RO | A nu se refolosi                                 |
|                                                                                     | EL | Μην κάνετε επαναληπτική χρήση                  |    |                                                  |
|    | IT | Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso     | ES | Atención, ver instrucciones de uso               |
|                                                                                     | EN | Caution, consult accompanying documents        | FR | Attention voir notice d'instructions             |
|                                                                                     | CZ | Pozor, čtěte příložené dokumenty               | PT | Atenção, consulte a documentação incluída        |
|                                                                                     | DE | Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen          | RO | Atentie, consultați documentele însoțitoare      |
|                                                                                     | EL | Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα |    |                                                  |
|    | IT | Fabbricante                                    | ES | Fabricante                                       |
|                                                                                     | EN | Manufacturer                                   | FR | Fabricant                                        |
|                                                                                     | CZ | Výrobce                                        | PT | Fabricante                                       |
|                                                                                     | DE | Hersteller                                     | RO | Productator                                      |
|                                                                                     | EL | Κατασκευαστής                                  |    |                                                  |
|    | IT | Contenuto sufficiente per "n" saggi            | ES | Contenido suficiente para <n> ensayos            |
|                                                                                     | EN | Contains sufficient for <n> tests              | FR | Contenu suffisant pour "n" tests                 |
|                                                                                     | CZ | Obsah stačí na <n> testů                       | PT | Conteúdo suficiente para "n" ensaios             |
|                                                                                     | DE | Inhalt reicht für „n“ Tests                    | RO | Continut suficient pt <n> teste                  |
|                                                                                     | EL | Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις          |    |                                                  |
|  | IT | Limiti di temperatura                          | ES | Límite de temperatura                            |
|                                                                                     | EN | Temperature limitation                         | FR | Limites de température                           |
|                                                                                     | CZ | Teplotní omezení                               | PT | Limites de temperatura                           |
|                                                                                     | DE | Temperaturgrenzwerte                           | RO | Limita da temperatura                            |
|                                                                                     | EL | Περιορισμοί θερμοκρασίας                       |    |                                                  |
|  | IT | Consultare le istruzioni per l'uso             | ES | Consulte las instrucciones de uso                |
|                                                                                     | EN | Consult Instructions for Use                   | FR | Consulter les instructions d'utilisation         |
|                                                                                     | CZ | Čtěte návod k použití                          | PT | Consulte as instruções de utilização             |
|                                                                                     | DE | Die Gebrauchsanleitung lesen                   | RO | Pentru a utiliza consultați instrucțiunile       |
|                                                                                     | EL | Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης              |    |                                                  |
|  | IT | Rischio biologico                              | ES | Riesgo biológico                                 |
|                                                                                     | EN | Biological risks                               | FR | Risques biologiques                              |
|                                                                                     | CZ | Biologická rizika                              | PT | Risco biológico                                  |
|                                                                                     | DE | Biologisches Risiko                            | RO | Risk biologic                                    |
|                                                                                     | EL | Βιολογικοί κίνδυνοι                            |    |                                                  |
| <b>REF</b>                                                                          | IT | Numero di catalogo                             | ES | Número de catálogo                               |
|                                                                                     | EN | Catalogue number                               | FR | Référence du catalogue                           |
|                                                                                     | CZ | Katalogové číslo                               | PT | Referência de catálogo                           |
|                                                                                     | DE | Katalognummer                                  | RO | Numar de catalog                                 |
|                                                                                     | EL | Αριθμός καταλόγου                              |    |                                                  |
| <b>IVD</b>                                                                          | IT | Dispositivo medico-diagnostico in vitro        | ES | Producto sanitario para diagnóstico in vitro     |
|                                                                                     | EN | In Vitro Diagnostic Medical Device             | FR | Dispositif médical de diagnostic in vitro        |
|                                                                                     | CZ | Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro     | PT | Dispositivo médico para diagnóstico in vitro     |
|                                                                                     | DE | Medizinisches In-vitro-Diagnostikum            | RO | Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro |
|                                                                                     | EL | Ιn Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν   |    |                                                  |
| <b>LOT</b>                                                                          | IT | Codice del lotto                               | ES | Código de lote                                   |
|                                                                                     | EN | Batch code                                     | FR | Code du lot                                      |
|                                                                                     | CZ | Kód šarže                                      | PT | Código do lote                                   |
|                                                                                     | DE | Chargennummer                                  | RO | Lot                                              |
|                                                                                     | EL | Αριθμός Παρτίδας                               |    |                                                  |