

**CHORUS
Promonitor
ANTI-INFLIXIMAB**

REF 86701



DIESSE

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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

Per la determinazione semiquantitativa di anticorpi anti-Infliximab nel siero umano

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB è un kit di immunodosaggio per la determinazione semiquantitativa automatizzata di anticorpi anti-Infliximab 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 Infliximab (IFX), come i pazienti con malattia infiammatoria intestinale (IBD) e malattie reumatiche.

Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

2. INTRODUZIONE

Infliximab (IFX) è un anticorpo monoclonale chimerico utilizzato come farmaco per il trattamento di una serie di malattie autoimmuni, tra cui malattia di Crohn, colite ulcerosa, artrite reumatoide, spondilite anchilosante, psoriasi, artrite psoriasica e malattia di Behçet.

Viene somministrato mediante iniezione lenta in vena, in genere a intervalli di sei-otto settimane. Infliximab sembra agire legandosi al TNF- α e neutralizzandolo, impedendogli di interagire con i rispettivi recettori sulla cellula. Il TNF- α è un messaggero chimico (citochina) e un elemento fondamentale della reazione autoimmune. Infliximab è stato originariamente sviluppato nei topi come anticorpo murino. Poiché gli esseri umani sviluppano reazioni immunitarie alle proteine murine, i domini comuni del topo sono stati sostituiti con domini anticorpali umani simili. Si tratta di anticorpi monoclonali dotati di strutture e affinità identiche al bersaglio. Poiché sono una combinazione di sequenze di amminoacidi di anticorpi umani e murini, sono chiamati "anticorpi monoclonali chimerici". Tuttavia, a volte IFX non riesce a produrre una risposta clinica soddisfacente nei pazienti, e ciò è spesso dovuto alla generazione di anticorpi anti-farmaco (ADA) o ad altri effetti indesiderati come infezioni, reazioni acute all'infusione e dolore addominale. Infliximab è stato approvato per l'uso medico negli Stati Uniti nel 1998 e nell'Unione Europea nell'agosto 1999.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB è pronto all'uso per la determinazione di anticorpi anti-Infliximab nel siero umano, nello strumento CHORUS TRIO.

Il test si basa su un metodo ELISA con anticorpo ponte.

Il metodo ELISA con anticorpo ponte è largamente utilizzato per lo screening di anticorpi antifarmaco ed è ben accettato come standard per lo screening di immunogenicità.

I pozzetti delle micropiastre sono pre-rivestiti con Infliximab (IFX). Calibratore, controllo positivo e campioni vengono aggiunti a un dispositivo separato.

Gli anticorpi anti-IFX sono in grado di legarsi all'IFX pre-immobilizzato in seguito a incubazione con il campione. Dopo il lavaggio per eliminare il campione non legato, si aggiunge IFX marcato con HRP (coniugato). Una seconda fase di incubazione consente al coniugato di legarsi agli anticorpi anti-IFX che hanno aderito ai pozzetti della micropiastre.

Dopo il lavaggio per eliminare il 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 anticorpi anti-IFX 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 Unità Arbitrarie (AU/ml).

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. Se il campione è aggiunto al pozzetto manualmente verificare che sia perfettamente distribuito.
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/>)

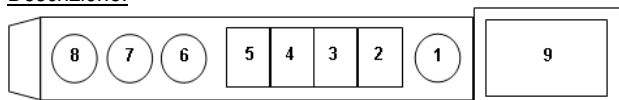
5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi il relativo Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinatori per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente del CHORUS TRIO).
9. In caso di utilizzo dello strumento CHORUS Autosampler (REF 81210), riferirsi al relativo Manuale utente.
10. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
11. 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.
12. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
13. **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: Vuota

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA
Rivestito con IFX

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA
Rivestito con IFX

Posizione 5: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 4: CONIUGATO

Contenuto: IFX marcato con HRP in 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 0.650 ml

Contenuto: Siero umano contenente anticorpi anti-IFX e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 1.100 ml

Contenuto: Siero umano contenente anticorpi anti-IFX 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 5 giorni a 2/8 °C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20 °C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti 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 ANTI-INFLIXIMAB (REF. 86701) 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	130 µl/dispositivo
CALIBRATORE	130 µl/dispositivo
CONTROLLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

Ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.

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

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento CHORUS TRIO fornisce il risultato in AU/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 > 5 AU/ml
NEGATIVO: quando il risultato è ≤ 5 AU/ml

11. LIMITAZIONI

1. Devono essere misurati i livelli di valle di anticorpo. Il momento ottimale per la raccolta dei campioni è immediatamente prima dell'infusione di IFX.

2. Questo dosaggio misura gli anticorpi leganti a IFX. Non misura gli immunocomplessi formati tra IFX e gli anticorpi anti-IFX.
3. Il test ELISA a ponte non rileva IgG4, poiché tale isotipo è bispecifico a causa dello scambio dinamico del frammento Fab e, pertanto, non può essere sottoposto a legame crociato nel dosaggio. Tuttavia, questo non dovrebbe essere clinicamente rilevante, poiché IgG4 non sarà presente senza le altre immunoglobuline G, anche nei pazienti con una risposta IgG4 predominante.
4. Questo dosaggio non deve essere usato come supporto nella diagnosi, né come test diagnostico di accompagnamento. Il medico deve interpretare i risultati nel contesto di altre variabili come finestra di campionamento, metodologia, livelli di IFX e altri riscontri clinici come l'attività della malattia.
5. Le caratteristiche prestazionali del dosaggio non sono state determinate per 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: 2.0-1500.0 AU/ml

Per campioni > 1500 AU/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 < 2.0 AU/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 (0.12 mg/ml – 0.45 mg/ml)
Trigliceridi (3.75 mg/ml – 15 mg/ml)
Emoglobina (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

La presenza delle sostanze interferenti sopra elencate nel siero in esame non altera il risultato del test.

15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 4 campioni, non contenenti anticorpi anti-IFX ma contenenti varie concentrazioni di anticorpi anti-ADL (11.1 – 782.4 AU/ml).

Non sono state rilevate reazioni crociate.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 156 campioni con un kit Diesse e con un Promonitor Anti-IFX ELISA kit. I dati sono riassunti nella seguente tabella:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	32	0	32
	-	0	124	124
	Totale	32	124	156

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):
100.0% IC_{95%}: 89.3-99.9

Percentuale di concordanza negativa: (~ specificità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 97.0-100.0

Valore predittivo positivo (PPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

Valore predittivo negativo (NPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

Il grado di concordanza tra i due metodi è ottimo con un valore di K (coefficiente di Cohen) di 1.0.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	35.9	11.1	30.2	10.1
2	11.2	14.6	10.1	8.0
3	451.3	11.8	741.5	14.2
4	16.1	11.9	117.4	7.8
5	2.0	-	2.0	-
6	2.0	-	2.0	-

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	44.1	4.6	32.1	14.4
2	10.4	8.6	9.8	13.9
3	811.6	13.3	639.4	14.9
4	78.3	7.2	125.6	14.0
5	2.0	-	2.0	-
6	2.0	-	2.0	-

18. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 3 campioni con concentrazioni note di anticorpi anti-IFX. Sono state effettuate diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 2.7 a 1500.0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.
3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis" Rheumatology (2011) Aug;50(8):1445-52



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

For the semiquantitative detection of anti-Infliximab antibodies in human serum

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB is an immunoassay kit for automated semiquantitative detection of anti-Infliximab antibodies 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 Infliximab (IFX), like patients with inflammatory bowel disease (IBD) and rheumatic diseases. It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

Infliximab (IFX) is a chimeric monoclonal antibody used as medication to treat a number of autoimmune diseases. This includes Crohn's disease, ulcerative colitis, rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, psoriasis, psoriatic arthritis, and Behçet's disease.

It is given by slow injection into a vein, typically at six-to-eight-week intervals. Infliximab seems to work by binding to and neutralizing TNF- α , preventing it from interacting with its receptors on the cell. TNF- α is a chemical messenger (cytokine) and a key part of the autoimmune reaction. Infliximab was originally developed in mice as a mouse antibody. Because humans have immune reactions to mouse proteins, the mouse common domains were replaced with similar human antibody domains. They are monoclonal antibodies and have identical structures and affinities to the target. Because they are a combination of mouse and human antibody amino acid sequences, they are called a "chimeric monoclonal antibody". However, sometimes IFX fails to produce a satisfactory clinical response in patients, and this is frequently reported as being due to the generation of anti-drug antibodies (ADAs) or to other side effects such as infections, acute infusion reactions, and abdominal pain. Infliximab was approved for medical use in the United States in 1998, and in the European Union in August 1999.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB device is ready to use for the detection of anti-Infliximab antibodies in human serum, in the CHORUS TRIO instrument.

The assay is based on a bridging ELISA method.

The bridging antibody ELISA method is widely used for anti-drug antibody screening and is well accepted as a standard for immunogenicity screening.

The microwell strips are pre-coated with Infliximab (IFX). Calibrator, positive control and samples are added to separate device.

Anti-IFX antibodies are able to bind to preimmobilized IFX following incubation with the sample. After washing to remove the unbound sample, a HRP-labelled IFX (conjugate) is added. A second incubation step allows the conjugate to bind to the anti-IFX antibodies, previously attached to the microwells.

After washing to remove the unbounded conjugate, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding Stop Solution, which makes the solution turns to yellow. The color which develops is proportional to the amount of anti-IFX antibodies 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 Arbitrary Units (AU/ml).

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. If the sample is added into the well manually, verify that it is perfectly distributed.
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

[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/)

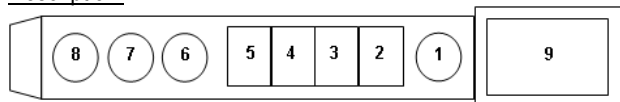
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set up correctly (see CHORUS TRIO Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see CHORUS TRIO Operating Manual).
9. When CHORUS Autosampler (REF 81210) is used, refer to the related Operating Manual
10. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
11. 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.
12. Do not use the device after the expiry date.
13. **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: EMPTY

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with IFX

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with IFX

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

Contents: HRP-labelled IFX in 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.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.650 ml

Contents: Human serum containing anti-IFX antibodies, and preservative.

Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 1.100 ml

Contents: Human serum containing anti-IFX antibodies, and preservative.

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 5 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C and can be thawed a maximum of 3 times.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be mixed 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 ANTI-INFLIXIMAB (REF. 86701) 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 device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense the following volumes in well no. 1 of each device:

SAMPLE	130 µl/device
CALIBRATOR	130 µl/device
POSITIVE CONTROL	130 µl/device

At each change of batch, use a device for the calibrator.

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 AU/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 > 5.0 AU/ml
NEGATIVE: when the result is ≤ 5.0 AU/ml

11. LIMITATIONS

1. Trough antibody levels should be measured. The optimum sample collection time is immediately before the IFX infusion.
2. This assay measures binding antibodies to IFX. It does not measure immunocomplexes formed between IFX and anti-IFX antibodies.
3. Bridging ELISA does not detect IgG4, since this isotype is bispecific due to Fab arm dynamic exchange and therefore cannot be crosslinked in the assay. However, this should not be clinically relevant, since IgG4 will not be present without other immunoglobulins G, even in patients with a predominant IgG4 response.
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, IFX levels and other clinical findings like disease activity.
5. 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 : 2.0-1500.0 AU/ml

For samples > 1500.0 AU/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 < 2.0 AU/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 (0.12 mg/ml – 0.45 mg/ml)
Triglycerides (3.75 mg/ml – 15 mg/ml)
Hemoglobin (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

The presence of the above interfering substances in the test serum does not alter the test result.

15. CROSS-REACTIONS

4 samples, not containing anti-IFX antibodies, but containing various concentrations of anti-ADL antibodies (11.1 – 782.4 AU/ml), were tested.

No cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 156 samples have been tested with Diesse kit and with a Promonitor Anti-IFX ELISA kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	32	0	32
	-	0	124	124
	Tot.	32	124	156

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% IC_{95%}: 89.3-99.9

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% IC_{95%}: 97.0-100.0

Positive Predictive Value (PPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

Negative Predictive Value (NPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 1.0.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	35.9	11.1	30.2	10.1
2	11.2	14.6	10.1	8.0
3	451.3	11.8	741.5	14.2
4	16.1	11.9	117.4	7.8
5	2.0	-	2.0	-
6	2.0	-	2.0	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	44.1	4.6	32.1	14.4
2	10.4	8.6	9.8	13.9
3	811.6	13.3	639.4	14.9
4	78.3	7.2	125.6	14.0
5	2.0	-	2.0	-
6	2.0	-	2.0	-

18. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 3 samples with known concentration of anti-IFX antibodies. For each sample serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 2.7-1500.0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAPHY

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.
3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis" Rheumatology (2011) Aug;50(8):1445-52



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

Pro semikvantitativní stanovení protilátek proti infliximabu v lidském séru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

Chorus Promonitor ANTI-INFLIXIMAB je imunoanalytická souprava pro automatizované semikvantitativní stanovení protilátek proti infliximabu 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 infliximabem (IFX), jako jsou pacienti se zánětlivým střevním onemocněním (IBD) a revmatickými chorobami.

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

2. ÚVOD

Infliximab (IFX) je chimérická monoklonální protilátka používaná jako lék k léčbě řady autoimunitních onemocnění, včetně Crohnovy choroby, ulcerózní kolitidy, revmatoidní artritidy, ankylozující spondylitidy, psoriázy, psoriatické artritidy a Behčetovy choroby.

Podává se pomalou injekcí do žíly, obvykle v intervalu šesti až osmi týdnů. Infliximab zřejmě působí tak, že se váže na TNF- α , neutralizuje jej a brání mu v interakci s příslušnými receptory na buňce. TNF- α je chemický posel (cytokin) a klíčový prvek autoimunitní reakce. Infliximab byl původně vyvinut na myších jako myší protilátka. Vzhledem k tomu, že se u lidí vyvíjejí imunitní reakce na myší proteiny, byly běžné myší domény nahrazeny podobnými lidskými protilátkovými doménami. Jedná se o monoklonální protilátky s identickou strukturou a afinitou k cíli. Vzhledem k tomu, že jsou kombinací aminokyselinových sekvencí lidských a myších protilátek, nazývají se „chimérické monoklonální protilátky“. IFX však někdy nedokáže u pacientů vyvolat uspokojivou klinickou odpověď, což je často způsobeno tvorbou protilátek proti léku (ADA) nebo jinými nežádoucími účinky, jako jsou infekce, akutní reakce na infuzi a bolesti břicha. Infliximab byl schválen pro lékařské použití v USA v roce 1998 a v Evropské unii v srpnu 1999.

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB je připraven k použití pro stanovení protilátek proti infliximabu v lidském séru v zařízení CHORUS TRIO.

Test je založen na metodě ELISA s přemosťující protilátkou.

Metoda ELISA s přemosťujícími protilátkami je široce používána pro screening protilátek proti lékům a je dobře přijímána jako standard pro screening imunogenicity.

Mikrotitrační jamky jsou předem potaženy infliximabem (IFX). Kalibrátor, pozitivní kontrola a vzorky se přidávají do samostatného nástroje.

Protilátky proti IFX se po inkubaci se vzorkem mohou vázat na předem imobilizovaný IFX. Po promytí, aby se odstranil nenavázaný vzorek, se přidá protilátka IFX značená HRP (konjugát). Druhá inkubační fáze umožňuje konjugátu se vázat na protilátky proti IFX, které ulpěly na mikrotitračních jamkách. Po promytí, aby se odstranil 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 protilátek proti IFX přítomnému ve vzorku pacienta.

Jednorázové nástroje obsahují všechny reagentie potřebné k provedení testu při použití zařízení CHORUS TRIO.

Výsledky jsou vyjádřeny v arbitrárních jednotkách (AU/ml).

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 nevkládejte do autoklávu.

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. Pokud je vzorek přidán do jamky manuálně, zkontrolujte, zda je dokonale rozložen.
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 ta, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse
[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/)

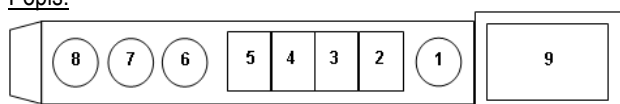
5. Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz příslušná uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka CHORUS TRIO).
9. Pokud používáte zařízení CHORUS Autosampler (REF 81210), řiďte se příslušnou uživatelskou příručkou.
10. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
11. Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků vykazujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
12. Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
13. **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: Prázdná

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená IFX

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená IFX

Pozice 5: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 4: KONJUGÁT

Obsah: IFX značený 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 0,650 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující protilátky proti IFX a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 1,100 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující protilátky proti IFX 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 5 dnů při teplotě 2/8°C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit na teplotu -20°C. Vzorek je možné rozmrazit maximálně třikrát. Neskladujte vzorky v mrazácích 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 ANTI-INFLIXIMAB (REF. 86701) 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	130 µl/nástroj
KALIBRÁTOR	130 µl/nástroj
POZITIVNÍ KONTROLA	130 µl/nástroj

Při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibrátor.

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 AU/ml, vypočítané na základě grafu podle šarží, který je uložen v paměti zařízení.

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: pokud je výsledek > 5 AU/ml

NEGATIVNÍ: pokud je výsledek ≤ 5 AU/ml

11. OMEZENÍ

7. Je třeba měřit následné hladiny protilátek. Optimální doba odběru vzorků je bezprostředně před infuzí IFX.
8. Tento test měří protilátky vázající IFX. Neměří imunokomplexy vytvořené mezi IFX a protilátkami proti IFX.
9. Test ELISA s přemostěním nedetekuje IgG4, protože tento izotyp je bispecifický v důsledku dynamické výměny Fab fragmentu, a proto nemůže být v testu zesíťován. To však není klinicky relevantní, protože protilátky IgG4 nebudou přítomny bez jiných imunoglobulinů G, a to ani u pacientů s převažující odpovědí IgG4.
10. Tento test nesmí být používán jako podpora při diagnostice ani jako doprovodný diagnostický test. Lékař musí interpretovat výsledky v kontextu dalších proměnných, jako

je odběrové vzorkovací okno, metodika, hladina IFX a další klinické výsledky, jako aktivita onemocnění.

11. Nebyly stanoveny výkonnostní charakteristiky testu na jiných matricích než sérum.
12. Tento produkt smí používat pouze odborný laboratorní personál, který prošel příslušným školením.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 2,0-1500,0 AU/ml

U vzorků > 1500 AU/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 <2,0 AU/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFITA

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

Bilirubin (0,12 mg/ml – 0,45 mg/ml)
Triglyceridy (3,75 mg/ml – 15 mg/ml)
Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

Byly testovány 4 vzorky, které neobsahovaly protilátky proti IFX, ale obsahovaly různé koncentrace protilátek proti ADL (11,1 – 782,4 AU/ml).

Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

16. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 156 vzorků pomocí soupravy Diesse a pomocí soupravy Promonitor Anti-IFX ELISA. Data jsou shrnuta v následující tabulce:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	32	0	32
	-	0	124	124
	Celkem	32	124	156

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

100,0% CI_{95%}: 89,3-99,9

Procento negativní konkordance (~ diagnostická specifita):

100,0% CI_{95%}: 97,0-100,0

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 1.0.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	35,9	11,1	30,2	10,1
2	11,2	14,6	10,1	8,0
3	451,3	11,8	741,5	14,2
4	16,1	11,9	117,4	7,8
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (AU/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	44,1	4,6	32,1	14,4
2	10,4	8,6	9,8	13,9
3	811,6	13,3	639,4	14,9
4	78,3	7,2	125,6	14,0
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

18. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 3 vzorků se známými koncentracemi protilátek proti IFX. Pro každý vzorek byla provedena sériová ředění, která prokázala linearitu metody od 2,7 do 1500,0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.
3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis" Rheumatology (2011) Aug;50(8):1445-52



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

Zur semiquantitativen Bestimmung von Antikörpern gegen Infliximab in Humanserum

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB ist ein Immunoassay-Testsatz für die automatisierte semiquantitative Bestimmung von Antikörpern gegen Infliximab 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 Infliximab (IFX) verabreicht wird, wie Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) und rheumatischen Erkrankungen.

Es darf nur von professionellen Labortechnikern verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Infliximab (IFX) ist ein chimärer monoklonaler Antikörper, der als Arzneimittel zur Behandlung einer Reihe von Autoimmunerkrankungen eingesetzt wird, darunter Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, rheumatoide Arthritis, ankylosierende Spondylitis, Psoriasis, Psoriasis-Arthritis und Behçet-Syndrom. Es wird durch langsame Injektion in eine Vene verabreicht, normalerweise in Abständen von sechs bis acht Wochen. Infliximab scheint zu wirken, indem es sich an den TNF- α bindet und diesen neutralisiert, wodurch verhindert wird, dass dieser mit den entsprechenden Rezeptoren an der Zelle interagiert. Der TNF- α ist ein chemischer Botenstoff (Zytokin) und ein Schlüsselement der Autoimmunreaktion. Infliximab wurde ursprünglich in Mäusen als muriner Antikörper entwickelt. Da Menschen Immunreaktionen gegen murine Proteine entwickeln, wurden die üblichen Mausdomänen durch ähnliche humane Antikörperdomänen ersetzt. Dies sind monoklonale Antikörper mit identischen Strukturen und Affinität gegenüber dem Target. Da sie eine Kombination von Aminosäuresequenzen von menschlichen und Maus-Antikörpern sind, werden sie „chimäre monoklonale Antikörper“ genannt. Manchmal führt IFX jedoch bei Patienten nicht zu einer zufriedenstellenden klinischen Reaktion, und dies ist häufig auf die Bildung von Anti-Drug-Antikörpern (ADA) oder andere Nebenwirkungen wie Infektionen, akute Infusionsreaktionen und Bauchschmerzen zurückzuführen. Infliximab wurde 1998 in den USA und August 1999 in der Europäischen Union zur medizinischen Anwendung zugelassen.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Antikörpern gegen Infliximab in Humanserum im Laboranalysator CHORUS TRIO. Der Test basiert auf einem ELISA-Verfahren mit Brückenantikörper.

Das ELISA-Verfahren mit Brückenantikörper wird häufig für das Screening von Anti-Drug-Antikörpern verwendet und ist als Standard für das Immunogenitäts-Screening anerkannt.

Die Vertiefungen der Mikroplatten sind mit Infliximab (IFX) vorbeschichtet. Kalibrator, Positivkontrolle und Proben kommen in ein separates Modul.

Anti-IFX-Antikörper sind in der Lage, sich nach der Inkubation mit der Probe an das vorimmobilisierte IFX zu binden. Nach dem Waschen zum Entfernen der nicht gebundenen Probe wird HRP-markiertes IFX (Konjugat) zugegeben. Im zweiten Inkubationsschritt kann sich das Konjugat an die Anti-IFX-Antikörper binden, die an den Vertiefungen der Mikroplatte haften.

Nach dem Spülen zur Entfernung des nicht gebundenen Konjugats wird Substrat für die Peroxidase zugegeben. Die enzymatische Reaktion wird durch Zugabe der Stopplösung beendet, wodurch die Lösung gelb wird. Die sich entwickelnde Farbe ist proportional zur Menge des in der Patientenprobe vorhandenen Anti-IFX-Antikörpers.

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

Die Ergebnisse sind ausgedrückt als Willkürliche Einheiten (arbitrary units, AU/ml).

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 Sicherheitsdatenblatt (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. Bei manuellem Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung 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 in der Tabelle auf der Diesse-Website veröffentlichte oder eine höhere Version (Rel.) handelt
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren, ob der CHORUS TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe betreffende 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 Strichcodes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung des CHORUS TRIO).
9. Wenn das Gerät CHORUS Autosampler (REF 81210) verwendet wird, ist dessen eigene Gebrauchsanleitung zu befolgen.
10. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
11. Die Verwendung von stark hämolytierten, lipämischen, ikterischen Proben, von unvollständig koaguliertem Serum

oder Proben mit mikrobieller Kontamination kann eine Fehlerquelle darstellen.

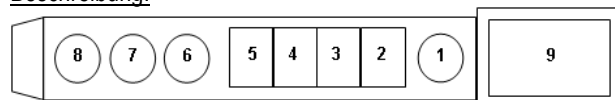
12. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
13. **Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Waschpuffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.**

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: Leer

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit IFX

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit IFX

Position 5: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 4: KONJUGAT

Inhalt: HRP-markiertes IFX und Puffer mit Konservierungsmittel

Position 3: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 2: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer stabilisiert

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 0,650 ml

Inhalt: Humanserum, das Anti-IFX-Antikörper und Konservierungsmittel enthält.
Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 1,100 ml

Inhalt: Humanserum, das Anti-IFX-Antikörper und Konservierungsmittel enthält.
Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF** 83609
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/RROBENVERDÜNNUNGSMITTE L **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 fünf Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei -20 °C eingefroren.

Die Probe darf maximal dreimal aufgetaut werden. 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 ANTI-INFLIXIMAB-Test (REF. 86701)** 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	130 µl/Testmodul
KALIBRATOR	130 µl/Testmodul
POSITIVE KONTROLLE	130 µl/Testmodul

Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.

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 AU/ml, die aufgrund eines vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Diagramms berechnet werden.

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: bei Ergebnis >5 AU/ml
NEGATIV: bei Ergebnis ≤ 5 AU/ml

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Es sollen die Talspiegel der Antikörper gemessen werden. Der optimale Zeitpunkt für die Probenahme ist unmittelbar vor der IFX-Infusion.
2. Dieser Assay misst Antikörper, die an IFX binden. Es misst nicht die Immunkomplexe, die aus IFX und den Anti-IFX-Antikörpern gebildet werden.
3. Der ELISA-Brückentest weist kein IgG4 nach, da dieser Isotyp aufgrund des dynamischen Austauschs des Fab-Fragments bispezifisch ist und daher beim Assay keiner Kreuzbindung unterzogen werden kann. Dies sollte jedoch klinisch nicht relevant sein, da IgG4 auch bei Patienten mit vorherrschender IgG4-Antwort nicht ohne die anderen Immunglobuline vom Typ G vorkommt.
4. Dieser Test darf weder als Diagnosehilfe noch als begleitender diagnostischer Test verwendet werden. Der Arzt muss die Ergebnisse unter Berücksichtigung anderer Variablen, wie Probenahmefenster, Methodik, IFX-Konzentration und andere klinische Befunde, z.B. Krankheitsaktivität, interpretieren.
5. Die Leistungsmerkmale des Assays wurden für keine anderen Matrices außer Serum bestimmt.
6. Dieses Produkt darf nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden, das angemessenen geschult wurde.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 2,0–1500,0 AU / ml

Bei Proben mit >1500 AU/ml den Test wiederholen, indem die Probe mit Negativer Kontrolle/Probenverdünnungsmedium (REF. 83607 - nicht im Testsatz enthalten) verdünnt wird.

13. REFERENZBEREICH

In der Normalbevölkerung gelten die Erwartungswerte, die anhand der Untersuchung von 120 Seren gesunder Spender ermittelt worden sind, mit Werten < 2,0 AU/ml als negativ.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

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

Bilirubin (0,12 mg/ml – 0,45 mg/ml)
Triglyceride (3,75 mg/ml – 15 mg/ml)
Hämoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

Die Präsenz der oben genannten Störsubstanzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden vier Proben getestet, die keine Anti-IFX-Antikörper, jedoch verschiedene Konzentrationen von Anti-ADL-Antikörpern (11,1 - 782,4 AU/ml) enthielten.

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHSTUDIEN

In einem Versuch wurden 156 Proben mit dem Diesse-Testsatz und einem Promonitor Anti-IFX ELISA-Testsatz getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	32	0	32
	-	0	124	124
	Insgesamt	32	124	156

Positive Übereinstimmungsrate (~ diagnostische Sensitivität):
100,0 % KI_{95%}: 89,3-99,9

Negative Übereinstimmungsrate (~ diagnostische Spezifität):
100,0 % KI_{95%}: 97,0-100,0

Positiver Vorhersagewert (PPV): 100,0 % KI_{95%}: 100,0–100,0

Negativer Vorhersagewert (NPV): 100,0 % KI_{95%}: 100,0–100,0

Der Übereinstimmungsgrad zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohen-Koeffizient) von 1,0 optimal.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (AU/ml)	VK %	Mittelwert (AU/ml)	VK %
1	35,9	11,1	30,2	10,1
2	11,2	14,6	10,1	8,0
3	451,3	11,8	741,5	14,2
4	16,1	11,9	117,4	7,8
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (AU/ml)	VK %	Mittelwert (AU/ml)	VK %
1	44,1	4,6	32,1	14,4
2	10,4	8,6	9,8	13,9
3	811,6	13,3	639,4	14,9
4	78,3	7,2	125,6	14,0
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

18. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 3 Proben mit bekannten Konzentrationen von Anti-IFX-Antikörpern bewertet. Für jede Probe wurden Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 2,7 bis 1500,0 AU/ml nachgewiesen wurde.

19. LITERATUR

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.
3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis" Rheumatology (2011) Aug;50(8):1445-52



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos anti-infliximab en suero humano

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB es un kit de inmunoensayo para la determinación semicuantitativa automatizada de anticuerpos anti-infliximab en suero humano con un 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 Infliximab (IFX), como los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y enfermedades reumáticas.

Para uso exclusivo de técnicos de laboratorio profesionales.

2. INTRODUCCIÓN

Infliximab (IFX) es un anticuerpo monoclonal quimérico que se utiliza como fármaco para el tratamiento de distintas enfermedades autoinmunes, como la enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante, la psoriasis, la artritis psoriásica y la enfermedad de Behçet.

Se administra mediante una inyección lenta en vena, generalmente a intervalos de seis a ocho semanas. Infliximab parece actuar uniéndose al TNF- α y neutralizándolo, impidiendo que interactúe con los respectivos receptores en la célula. El TNF- α es un mensajero químico (citoquina) y un elemento clave de la reacción autoinmune. Infliximab se desarrolló originalmente en ratones como un anticuerpo murino. Dado que los seres humanos desarrollan reacciones inmunitarias a las proteínas murinas, los dominios comunes de ratón se han reemplazado por dominios de anticuerpos humanos similares. Son anticuerpos monoclonales y tienen estructuras y afinidades idénticas al objetivo. Como son una combinación de secuencias de aminoácidos de anticuerpos humanos y murinos, se denominan «anticuerpos monoclonales quiméricos». Sin embargo, a veces IFX no logra producir una respuesta clínica satisfactoria en los pacientes, y con frecuencia esto se debe a la generación de anticuerpos antidrogas (ADA) o a otros efectos secundarios como infecciones, reacciones agudas a la infusión y dolor abdominal. Infliximab se aprobó para uso médico en los Estados Unidos en 1998 y en la Unión Europea en agosto de 1999.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB está listo para su uso para la determinación de anticuerpos anti-infliximab en suero humano, en el equipo CHORUS TRIO.

La prueba se basa en un método ELISA con anticuerpo puente.

El método ELISA con anticuerpo puente se utiliza ampliamente para el cribado de anticuerpos antidrogas y está bien aceptado como estándar para el cribado de inmunogenicidad.

Los pocillos de las microplacas están recubiertos previamente con Infliximab (IFX). El calibrador, el control positivo y las muestras se añaden a un dispositivo separado.

Los anticuerpos anti-IFX pueden unirse al IFX preinmovilizado tras la incubación con la muestra. Después del lavado para eliminar la muestra no unida, se añade IFX marcado con HRP (conjugado). Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una a los anticuerpos anti-IFX que se han adherido a los pocillos de la microplaca.

Tras el lavado para eliminar el 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 anticuerpos anti-IFX 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 están expresados en unidades arbitrarias (UA/ml).

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.

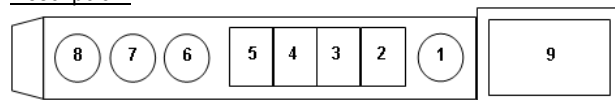
1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Si se añade la muestra al pocillo manualmente, comprobar que esté distribuida perfectamente.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia 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 del equipo CHORUS TRIO).
9. Si se utiliza el instrumento CHORUS Autosampler (REF. 81210), consultar el manual de usuario correspondiente.
10. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
11. 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.
12. No utilizar el dispositivo después de la fecha de caducidad.
13. **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: Vacía

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con IFX

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con IFX

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M

Posición 4: CONJUGADO

Contenido: IFX marcado con HRP en 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 0,650 ml

Contenido: Suero humano que contiene anticuerpos anti-IFX y conservante.

Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 1,100 ml

Contenido: Suero humano que contiene anticuerpos anti-IFX 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 5 días; para conservaciones más largas congelar a -20 °C.

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. 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 ANTI-INFLIXIMAB (REF. 86701) se puede realizar simultáneamente SOLO con otras pruebas CHORUS Promonitor.

1. Abrir la bolsa (lado con el cierre a presión), sacar los dispositivos necesarios para realizar el análisis y depositar los demás en la bolsa. Expulsar el aire y cerrar la bolsa para que se conserven.
2. Controlar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones incluidas en el capítulo 4, Advertencias relacionadas con el análisis.
3. Dispensar en el pocillo n.º 1 de cada dispositivo:

MUESTRA	130 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROL POSITIVO	130 µl/dispositivo

Utilizar un dispositivo para el calibrador cada vez que se cambie de lote.

4. Introducir los dispositivos en el equipo CHORUS TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el 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 AU/ml.

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es >5 AU/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es ≤5 AU/ml

11. LIMITACIONES

1. Deben medirse los niveles valle de anticuerpo. El momento óptimo para la recogida de las muestras es inmediatamente antes de la infusión de IFX.
2. Este ensayo mide los anticuerpos que se unen a IFX. No mide los complejos inmunes formados entre IFX y anticuerpos anti-IFX.
3. El ensayo ELISA puente no detecta IgG4, ya que este isotipo es biespecífico debido al intercambio dinámico del fragmento Fab y, por lo tanto, no puede ser sometido a unión cruzada en el ensayo. Sin embargo, esto no debería ser clínicamente relevante, ya que IgG4 no estará presente sin las otras inmunoglobulinas G, incluso en pacientes con una respuesta de IgG4 predominante.
4. Este ensayo no se debe utilizar como ayuda en el diagnóstico ni como prueba de diagnóstico complementaria. El médico debe interpretar los resultados teniendo en cuenta otras variables como la ventana de muestreo, la metodología, los niveles de IFX y otros resultados clínicos como la actividad de la enfermedad.
5. Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para matrices distintas del suero.
6. Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal de laboratorio profesional que haya recibido una formación adecuada.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 2,0-1500,0 AU/ml

Para muestras >1500 AU/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra con 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 <2,0 AU/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 (0,12 mg/ml – 0,45 mg/ml)
Triglicéridos (3,75 mg/ml – 15 mg/ml)
Hemoglobina (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

La presencia de las mencionadas sustancias interferentes en el suero analizado no altera el resultado de la prueba.

15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron cuatro muestras, que no contenían anticuerpos anti-IFX pero que contenían varias concentraciones de anticuerpos anti-ADL (11,1 – 782,4 AU/ml).

No se encontraron reacciones cruzadas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 156 muestras con un kit Diesse y con un kit Promonitor Anti-IFX ELISA.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

		Referencia		
		+	-	Total
	Diesse			
	+	32	0	32
	-	0	124	124
	Total	32	124	156

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100,0 % IC₉₅ %: 89,3-99,9

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

100,0 % IC₉₅ %: 97,0-100,0

Valor predictivo positivo (VPP): 100,0 % IC₉₅ %: 100,0-100,0

Valor predictivo negativo (VPN): 100,0 % IC₉₅ %: 100,0-100,0

El grado de concordancia entre los dos métodos es excelente con un valor K (coeficiente de Cohen) de 1,0.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (AU/ml)	CV %	Media (AU/ml)	CV %
1	35,9	11,1	30,2	10,1
2	11,2	14,6	10,1	8,0
3	451,3	11,8	741,5	14,2
4	16,1	11,9	117,4	7,8
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (AU/ml)	CV %	Media (AU/ml)	CV %
1	44,1	4,6	32,1	14,4
2	10,4	8,6	9,8	13,9
3	811,6	13,3	639,4	14,9
4	78,3	7,2	125,6	14,0
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

18. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 3 muestras con concentraciones conocidas de anticuerpos anti-IFX. Se realizaron diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 2,7 a 1500,0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAFÍA

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.

3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis" Rheumatology (2011) Aug;50(8):1445-52



MODE D'EMPLOI

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps anti-infliximab dans le sérum humain

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB est un kit de dosage immunologique pour la détermination semi-quantitative automatisée des anticorps anti-infliximab 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'Infliximab (IFX), tels que les patients souffrant de pathologies intestinale (IBD) et de pathologies rhumatismales.

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

2. INTRODUCTION

L'infliximab (IFX) est un anticorps monoclonal chimérique utilisé comme médicament pour traiter un certain nombre de maladies auto-immunes, notamment la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse, la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante, le psoriasis, le rhumatisme psoriasique et la maladie de Behçet.

Il est administré par injection lente dans une veine, généralement à intervalles de six à huit semaines. L'infliximab semble agir en se liant au TNF- α et en le neutralisant, l'empêchant d'interagir avec les récepteurs respectifs sur la cellule. Le TNF- α est un messager chimique (cytokine) et un élément constitutif de la réaction auto-immune. L'infliximab a été développé à l'origine chez le rat comme anticorps murin. Au fur et à mesure que les humains développent des réactions immunitaires aux protéines murines, les domaines communs du rat ont été remplacés par des domaines d'anticorps humains similaires. Il s'agit d'anticorps monoclonaux dotés de structures et d'affinités identiques à la cible. Parce qu'ils constituent une combinaison de séquences d'acides aminés d'anticorps humains et murins, ils sont appelés « anticorps monoclonaux chimériques ». Cependant, l'IFX ne parvient parfois pas à produire une réponse clinique satisfaisante chez les patients, et cela est souvent dû à la génération d'anticorps anti-médicament (ADA) ou à d'autres effets secondaires tels que des infections, des réactions aiguës à la perfusion et des douleurs abdominales. L'infliximab a été approuvé à des fins médicales aux États-Unis en 1998 et dans l'Union européenne en août 1999.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps anti-Infliximab dans le sérum humain, dans le dispositif CHORUS TRIO.

Le test est basé sur une méthode ELISA d'anticorps ponts.

La méthode ELISA à anticorps de pontage est largement utilisée pour le criblage d'anticorps anti-médicament et bien acceptée comme norme pour le criblage d'immunogénicité.

Les puits des microplaques sont pré-revêtus d'Infliximab (IFX). Le calibre, le contrôle positif et les échantillons sont ajoutés à un dispositif séparé.

Les anticorps anti-IFX sont capables de se lier à l'IFX pré-immobilisé après incubation avec l'échantillon. Après le lavage pour éliminer l'échantillon non lié, l'IFX marqué avec HRP (conjugué) est ajouté. Une deuxième étape d'incubation permet au conjugué de se lier aux anticorps anti-IFX qui ont adhéré aux puits de la microplaque.

Après lavage pour éliminer le conjugué non lié, le substrat pour la 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 d'anticorps anti-IFX présents 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 unités arbitraires (UA/ml).

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 pipeter 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'appareil 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 utiliser dans les 60 minutes.

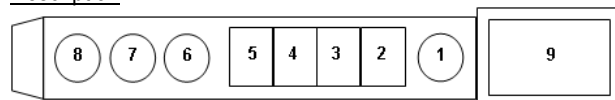
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 2) coloré de bleu.**
2. Si l'échantillon est ajouté manuellement dans le puits, vérifier qu'il est parfaitement réparti.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif ; ne pas utiliser les dispositifs 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'analyseur CHORUS TRIO, en suivant strictement les instructions d'utilisation et le manuel d'utilisation de l'analyseur.
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'analyseur 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 correspondant).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Tout code à barres défectueux peut être saisi manuellement dans l'analyseur (voir le manuel d'utilisation du CHORUS TRIO).
9. En cas d'utilisation de l'analyseur CHORUS Autosampler (RÉF 81210), se reporter au manuel d'utilisation correspondant.
10. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
11. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, lipémiques et icteriques, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une contamination microbienne peut constituer une source d'erreur.
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
13. **S'assurer que l'analyseur est connecté au Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 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 : Vide

Position 7 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE
Enduit d'IFX

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE
Enduit d'IFX

Position 5 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 4 : CONJUGUÉ

Contenu : IFX marqué avec HRP dans un 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 0,650 ml

Contenu : Sérum humain contenant des anticorps anti-IFX et un conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 1,100 ml

Contenu : Sérum humain contenant des anticorps anti-IFX et un conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **RÉF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **RÉF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **RÉF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **RÉF** 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 pour le recueil de matières potentiellement infectées

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8°C. En cas de température de stockage incorrecte, il est nécessaire de répéter la calibration et de vérifier l'exactitude du résultat à

l'aide du 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 5 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues, congeler à -20 °C.

L'échantillon peut subir jusqu'à 3 décongelations maximum. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, 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 ANTI-INFLIXIMAB (RÉF. 86701) peut UNIQUEMENT être exécuté simultanément à d'autres tests CHORUS Promonitor.

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

ÉCHANTILLON	130 µl/dispositif
CALIBREUR	130 µl/dispositif
CONTRÔLE POSITIF	130 µl/dispositif

Utiliser un dispositif pour le calibre à chaque changement de lot.

- Introduire les dispositifs dans l'analyseur CHORUS TRIO. Effectuer le calibrage (si requis) et le test comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'analyseur

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@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

Le dosage du sérum analysé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est de > 5 AU/ml

NÉGATIF : lorsque le résultat est ≤ 5 AU/ml

11. LIMITES

- Les niveaux résiduels d'anticorps doivent être mesurés. Le moment optimal pour le prélèvement des échantillons est immédiatement avant l'infusion d'IFX.
- Ce dosage mesure les anticorps de liaison à l'IFX. Il ne mesure pas les immuno-complexes formés entre l'IFX et les anticorps anti-IFX.
- Le test ELISA à pontage ne détecte pas l'IgG4, car cet isotype est bispécifique en raison de l'échange dynamique du fragment Fab et ne peut donc pas être soumis à un lien croisé dans le dosage. Cependant, cela ne devrait pas être cliniquement pertinent, car l'IgG4 ne sera pas présente sans les autres immunoglobulines G, même chez les patients présentant une réponse IgG4 prédominante.
- Ce test ne doit pas être utilisé comme aide au diagnostic, ni comme test de diagnostic d'accompagnement. Le médecin doit interpréter les résultats dans le contexte d'autres variables telles que la fenêtre d'échantillonnage, la méthodologie, les niveaux d'IFX et d'autres résultats cliniques tels que l'activité de la maladie.
- Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été déterminées pour des matrices autres que le sérum.
- Ce produit doit être utilisé exclusivement par un personnel de laboratoire professionnel ayant reçu une formation adéquate.

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 2,0-1 500,0 AU/ml

Pour les échantillons > 1 500 AU/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, déterminées en examinant 120 sérums de donneurs sains, sont négatives, avec des valeurs de < 2,0 AU/ml.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

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

Bilirubine (0,12 mg/ml - 0,45 mg/ml)
Triglycérides (3,75 mg/ml - 15 mg/ml)
Hémoglobine (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

La présence des substances interférentes susmentionnées dans le sérum analysé n'altère pas le résultat du test.

15. RÉACTIONS CROISÉES

Quatre échantillons ont été testés, ne contenant pas d'anticorps anti-IFX mais contenant diverses concentrations d'anticorps anti-ADL (11,1 - 782,4 UA/ml).

Aucune réaction croisée n'a été observée.

16. ÉTUDES COMPARATIVES

Dans une expérience, 156 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et un kit ELISA Promonitor Anti-IFX.

Les données figurent dans le tableau suivant :

		Référence		
		+	-	Total
	Diesse	32	0	32
		0	124	124
	Total	32	124	156

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) :

100,0 % IC₉₅ % : 89,3 à 99,9

Taux de concordance négative (~ spécificité diagnostique) :

100,0 % IC₉₅ % : 97,0 à 100,0

Valeur prédictive positive (PPV) : 100,0 % IC₉₅ % : 100,0 à 100,0

Valeur prédictive négative (NPV) : 100,0 % IC₉₅ % : 100,0 à 100,0

Le degré de concordance entre les deux méthodes est optimal avec un coefficient K (coefficient de Cohen) de 1.0.

17. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Entre les séances	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	35,9	11,1	30,2	10,1
2	11,2	14,6	10,1	8,0
3	451,3	11,8	741,5	14,2
4	16,1	11,9	117,4	7,8
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne (AU/ml)	CV %	Moyenne (AU/ml)	CV %
1	44,1	4,6	32,1	14,4
2	10,4	8,6	9,8	13,9
3	811,6	13,3	639,4	14,9
4	78,3	7,2	125,6	14,0
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

18. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée au moyen de 3 échantillons avec des concentrations connues d'anticorps anti-IFX. Des dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, ce qui a démontré la linéarité de la méthode de 2,7 à 1 500,0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAPHIE

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.

3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in rheumatoid arthritis" Rheumatology (2011) Aug;50(8):1445-52



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB

Para a determinação semiquantitativa de anticorpos anti-Infliximab em soro humano

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB é um kit de imunoensaio para a determinação semiquantitativa automatizada do anti-Infliximab em soro humano com um dispositivo de utilização única 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 Infliximab (IFX), tais como doentes com doença inflamatória intestinal (DII) e doenças reumáticas.

Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

O Infliximab (IFX) é um anticorpo monoclonal quimérico utilizado como medicamento para tratar uma série de doenças autoimunes, incluindo a doença de Crohn, colite ulcerosa, artrite reumatoide, espondilite anquilosante, psoríase, artrite psoriática e doença de Behçet.

É administrado por injeção lenta numa veia, geralmente com intervalos de seis a oito semanas. O Infliximab parece atuar ligando-se ao TNF- α e neutralizando-o, impedindo-o de interagir com os respetivos recetores na célula. O TNF- α é um mensageiro químico (citocina) e um elemento fundamental da reação autoimune. O Infliximab foi originalmente desenvolvido em ratos como anticorpo murino. À medida que os humanos desenvolvem reações imunitárias às proteínas murinas, os domínios comuns do rato foram substituídos por domínios de anticorpos similares a humanos. Estes são anticorpos monoclonais com estruturas e afinidades idênticas ao alvo. Sendo uma combinação de sequências de aminoácidos de anticorpos humanos e murinos, são designados "anticorpos monoclonais quiméricos". No entanto, o IFX por vezes não consegue produzir uma resposta clínica satisfatória nos doentes, e isto deve-se frequentemente à geração de anticorpos antifármacos (ADA) ou a outros efeitos indesejáveis, tais como infeções, reações agudas à infusão e dores abdominais. O Infliximab foi aprovado para uso médico nos Estados Unidos em 1998 e na União Europeia em Agosto de 1999.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo CHORUS Promonitor ANTI-INFLIXIMAB está pronto a ser utilizado para a determinação de anticorpos anti-Infliximab (IFX) em soro humano, no instrumento CHORUS TRIO.

O teste é baseado num método ELISA com anticorpos de ligação.

O método ELISA de anticorpos de ligação é amplamente utilizado para o rastreio de anticorpos anti-fármaco e é bem aceite como padrão para o rastreio de imunogenicidade.

Os poços das microplacas são pré-revestidos com Infliximab (IFX). Calibrador, controlo positivo e amostras são adicionados a um dispositivo separado.

Os anticorpos anti-IFX são capazes de se ligar ao IFX pré-imobilizado após a incubação com a amostra. Após a lavagem para remover a amostra não ligada, é adicionado IFX marcado com HRP (conjugado). Uma segunda fase de incubação permite que o conjugado se ligue aos anticorpos anti-IFX que aderiram aos poços da microplaca.

Após a lavagem para remover o 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 anticorpos anti-IFX presentes 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 Unidades arbitrárias (UA/ml).

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 infectados. 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. Se a amostra for adicionada ao poço manualmente, verificar que esteja perfeitamente distribuída.
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 respetivo 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 do CHORUS TRIO).
9. Ao utilizar o instrumento CHORUS Autosampler (REF 81210), consultar o respetivo Manual do Utilizador.
10. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
11. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
12. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
13. **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: Vazia

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com IFX

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com IFX

Posição 5: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 4: CONJUGADO

Conteúdo: IFX com HRP em tampão que contém conservante

Posição 3: TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

Posição 2: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: 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 0,650 ml

Conteúdo: Soro humano que contém anticorpos anti-IFX e conservante.

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 1,100 ml

Conteúdo: Soro humano que contém anticorpos anti-IFX 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 infectados

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 5 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a -20 °C.

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. 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 ANTI-INFLIXIMAB (REF. 86701) pode ser realizado simultaneamente SOMENTE com os outros testes CHORUS Promonitor.

1. Abrir o invólucro (do lado que tem o fecho de pressão), retirar o número de dispositivos necessários para realizar os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após a expulsão do ar.
2. Verificar visualmente o estado do dispositivo segundo as indicações dadas no capítulo 4 Advertências Analíticas.
3. Deitar no poço n.º 1 de cada dispositivo:

AMOSTRA	130 µl/dispositivo
CALIBRADOR	130 µl/dispositivo
CONTROLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

A cada mudança de lote, utilizar um dispositivo para o calibrador.

4. Introduzir os dispositivos no instrumento CHORUS TRIO. Proceder à calibração (se necessário) e realizar o teste conforme indicado no Manual do Utilizador 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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O instrumento CHORUS TRIO fornece o resultado expresso em AU/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 é > 5 AU/ml

NEGATIVO: quando o resultado é ≤ 5 AU/ml

11. LIMITAÇÕES

1. Devem ser medidos os níveis de anticorpos a jusante. O momento ideal para a colheita de amostras é imediatamente antes da infusão de IFX.
2. Este ensaio mede os anticorpos de ligação IFX. Não mede os complexos imunitários formados entre os IFX e os anticorpos anti-IFX.
3. O teste ELISA de ligação não deteta IgG4, uma vez que este isotipo é biespecífico devido à troca dinâmica do fragmento Fab e, portanto, não pode ser sujeito a ligação cruzada no ensaio. Contudo, isto não deve ser clinicamente relevante, uma vez que a IgG4 não estará presente sem as outras imunoglobulinas G, mesmo em doentes com uma resposta IgG4 predominante.
4. Este ensaio não deve ser utilizado como um auxílio 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, níveis de IFX e outros resultados clínicos tais como a atividade da doença.
5. As características de desempenho do ensaio não foram determinadas para outras matrizes para além 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: 2,0-1500,0 AU/ml

Para amostras > 1500 AU/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 <2,0 AU/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 (0,12 mg/ml - 0,45 mg/ml)
Triglicéridos (3,75 mg/ml - 15 mg/ml)
Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

A presença das substâncias interferentes acima enumeradas no soro em exame não afeta o resultado do teste.

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas quatro amostras que não continham anticorpos anti-IFX mas com várias concentrações de anticorpos anti-ADL (11,1 - 782,4 AU/ml).

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experiência foram analisadas 156 amostras com um kit Diesse e com kit Promonitor Anti-IFX ELISA.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	32	0	32
	-	0	124	124
	Total	32	124	156

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

100.0% IC_{95%}: 89,3-99,9

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

100.0% IC_{95%}: 97,0-100,0

Valor Preditivo Positivo (VPP): 100.0% IC_{95%}: 100,0-100,0

Valor Preditivo Negativo (VPN): 100.0% IC_{95%}: 100,0-100,0

O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 1.0.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (UA/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	35,9	11,1	30,2	10,1
2	11,2	14,6	10,1	8,0
3	451,3	11,8	741,5	14,2
4	16,1	11,9	117,4	7,8
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (UA/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	44,1	4,6	32,1	14,4
2	10,4	8,6	9,8	13,9
3	811,6	13,3	639,4	14,9
4	78,3	7,2	125,6	14,0
5	2,0	-	2,0	-
6	2,0	-	2,0	-

18. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 3 amostras com concentrações conhecidas de anticorpos anti-IFX. Foram realizadas diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 2,7 a 1500,0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Vaughn B.P. "A Practical Guide to Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Medications for Inflammatory Bowel Disease" J Clin Med (2021) Oct 27;10(21):4990.
2. Fisher S. et All "Long-term effectiveness, safety and immunogenicity of the biosimilar SB2 in inflammatory bowel disease patients after switching from originator infliximab" Therap Adv Gastroenterol (2021) Jan 14:14.
3. West T.A. et All. "Comparison of three commercially available ELISA assays for anti-infliximab antibodies" Pathology (2021) Jun;53(4):508-514.
4. Ruiz-Argüello M.B. et All. "Antibodies to infliximab in Remicade-treated rheumatic patients show identical reactivity towards biosimilars" Ann Rheum Dis (2016) Sep;75(9):1693-6.
5. Marini J.C. et All. "Comparisons of Serum Infliximab and Antibodies-to-Infliximab Tests Used in Inflammatory Bowel Disease Clinical Trials of Remicade®" AAPS J (2017) Jan;19(1):161-171
6. Pascual-Salcedo d. et All. "Influence of immunogenicity on the efficacy of long-term treatment with infliximab in

	EN IT DE ES	Date of manufacture Data di fabbricazione Herstellungsdatum Fecha de fabricación	FR GR PT PL RO	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data produkcji Data fabricatiei
	EN IT DE ES	Use By Utilizzare entro Verwendbar bis Fecha de caducidad	FR GR PT PL RO	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Zużyć do dnia A se folosi pana la
	EN IT DE ES	Do not reuse Non riutilizzare Nicht wieder verwenden No reutilizar	FR GR PT PL RO	Ne pas réutiliser Μην κάνετε επαναληπτική χρήση Não reutilizar Nie używać ponownie A nu se refolosi
	EN IT DE ES	Caution, consult accompanying documents Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen Atención, ver instrucciones de uso	FR GR PT PL RO	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Uwaga, patrz instrukcja obsługi Atentie, consultați documentele însoțitoare
	EN IT DE ES	Manufacturer Fabbrikante Hersteller Fabricante	FR GR PT PL RO	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producent Productator
	EN IT DE ES	Contains sufficient for <n> tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Inhalt reicht für „n“ Tests Contenido suficiente para <n> ensayos	FR GR PT PL RO	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios Wystarczająca ilość materiału do „(liczby)” badań Continut suficient pt <n> teste
	EN IT DE ES	Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturgrenzwerte Limite de temperatur	FR GR PT PL RO	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Granice temperatury Limita da temperatura
	EN IT DE ES	Consult Instructions for Use Consultare le istruzioni per l'uso Die Gebrauchsanleitung lesen Consulte las instrucciones de uso	FR GR PT PL RO	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Należy zapoznać się z instrukcją obsługi Pentru utilizare consultați instrucțiunile
	EN IT DE ES	Catalogue number Numero di catalogo Katalognummer Número de catálogo	FR GR PT PL RO	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numer katalogowy Numar de catalog
	EN IT DE ES	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Medizinisches In-vitro-Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro	FR GR PT PL RO	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro Dizpositiv medical pentru diagnosticare in vitro
	EN IT DE ES	Batch code Codice del lotto Chargennummer Código de lote	FR GR PT PL RO	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote Kod partii Lot
	EN IT DE ES	CE marking of conformity Marcatura CE di conformità CE-Konformität Skennzeichnung Marcado CE de conformidad	FR GR PT PL RO	Marquage de conformité CE Σημανση συμμορφωση CE Marcação CE de conformidade Oznakowanie zgodności CE Marcajul de conformitate CE