

**CHORUS
Promonitor
VEDOLIZUMAB**

REF 86710



DIESSE

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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

Per la determinazione quantitativa di Vedolizumab nel siero umano

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB è un kit di immunodosaggio per la determinazione quantitativa automatizzata di Vedolizumab 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 Vedolizumab (VDZ), come i pazienti con malattia infiammatoria intestinale (IBD) e malattie reumatiche.

Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

2. INTRODUZIONE

Vedolizumab (VDZ) è un anticorpo monoclonale IgG1 umanizzato espresso nelle cellule dell'ovaio di criceto cinese (CHO) che lega specificamente l'integrina $\alpha 4\beta 7$ che è espressa su un sottoinsieme discreto di linfociti T helper della memoria, che preferibilmente migrano nel tratto gastrointestinale (GI), causando infiammazione caratteristica della colite ulcerosa e del morbo di Crohn. VDZ riduce l'infiammazione migliorando i sintomi, caratterizzati da fasi più acute seguite da remissione clinica, accompagnate da dolore addominale, diarrea e sanguinamento che limitano le attività sociali e lavorative dei pazienti che ne sono affetti. VDZ è un immunosoppressore biologico ad alta selettività per il tratto intestinale ed è indicato per il trattamento di pazienti adulti con colite ulcerosa attiva da moderata a grave o morbo di Crohn che hanno avuto una risposta inadeguata o sono stati intolleranti alla terapia convenzionale, o ad un fattore di necrosi tumorale alfa (TNF α) antagonista. VDZ può essere potenzialmente immunogenico e indurre la formazione di anticorpi anti-farmaco (ADA), riducendo così potenzialmente l'efficacia del trattamento. È comune una graduale diminuzione dell'efficacia nel tempo a seguito di una risposta iniziale ai farmaci.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB è pronto all'uso per la determinazione di Vedolizumab nel siero umano, nello strumento CHORUS TRIO.

Il test si basa su un metodo ELISA a sandwich.

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

VDZ è in grado di legarsi all'anti-VDZ pre-immobilizzato in seguito a incubazione con il campione. Dopo il lavaggio per eliminare il campione non legato, si aggiunge un anticorpo anti-VDZ marcato con HRP (coniugato). Una seconda fase di incubazione consente al coniugato di legarsi al VDZ che ha 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 VDZ presente nel campione del paziente.

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

I risultati sono espressi in $\mu\text{g/ml}$.

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.

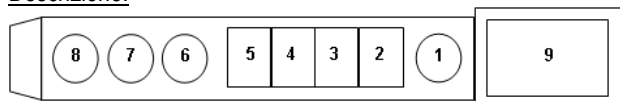
1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 2) colorato di blu.**
2. Se il campione è aggiunto al pozzetto manualmente verificare che sia perfettamente distribuito.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso; non utilizzare dispositivi 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: TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con anticorpo monoclonale umano anti-VDZ

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con anticorpo monoclonale umano anti-VDZ

Posizione 5: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 4: CONIUGATO

Contenuto: Anticorpo anti-VDZ 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 VDZ e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: Siero umano contenente VDZ 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 VEDOLIZUMAB (REF. 86710) 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 µg/ml, calcolati in base a un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

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

POSITIVO: quando il risultato è $\geq 1.5 \mu\text{g/ml}$

NEGATIVO: quando il risultato è $\leq 1.1 \mu\text{g/ml}$

EQUIVOCO: quando il risultato è tra 1.2 e 1.4 µg/ml

Risultati equivoci sono ottenuti in caso di valori che si trovano nel range tra il limite di detezione (<1.1 µg/ml) e il limite basso di quantizzazione (1.5 µg/ml).

11. LIMITAZIONI

Questo dosaggio misura il VDZ libero. Non misura gli immunocomplessi formati tra VDZ e gli anticorpi anti-VDZ.

Tutti i valori ottenuti richiedono un'attenta interpretazione che deve considerare altri indicatori relativi al paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per le decisioni sulla gestione del paziente e il risultato del test deve essere valutato insieme all'anamnesi del paziente, ad altre valutazioni diagnostiche cliniche e ai risultati di laboratorio.

Questo prodotto deve essere utilizzato solo da personale professionale di laboratorio adeguatamente formato.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 1.1-60.0 µg/ml

Per campioni > 60.0 µg/ml, ripetere il test diluendo il campione con Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - non fornito con il kit).

13. RANGE DI RIFERIMENTO

Nella popolazione normale i valori attesi, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, sono negativi, con valori <1.1 µg/ml.

14. SPECIFICITÀ ANALITICA

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

Bilirubina (4.5 mg/dl – 40 mg/dl)
Trigliceridi (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Emoglobina (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

2 campione Fattore Reumatoide (RF) positivi (200 IU/ml) sono stati addizionati con Vedolizumab.

Livello alto – 32.4 µg/ml
Livello basso – 7.2 µg/ml
Negativo – < 1.1 µg/ml

La presenza di RF nel siero in esame non altera il risultato del test.

15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 10 campioni, non contenenti Vedolizumab ma contenenti IFX (10.8 µg/ml) – 5 campioni e ADL (27.0 µg/ml) – 5 campioni.

Non sono state rilevate reazioni crociate.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 170 campioni con il kit Diesse e con il kit Promonitor VDZ ELISA.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Totale	41	129	170

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):
100.0% CI_{95%}: 91.4-99.9

Percentuale di concordanza negativa: (~ specificità diagnostica):
100.0% CI_{95%}: 97.1-100.0

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

Valore predittivo negativo (NPV): 100.0% CI_{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.

Dei 170 campioni, su 41 campioni positivi è stata testata la correlazione tra il kit Diesse e un altro kit in commercio.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

Correlazione	r	IC 95%
Pearson	0.95	0.91-0.97
Spearman	0.97	0.94-0.98

La correlazione tra i due metodi è molto alta.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	27.1	7.2	24.3	9.1
2	10.7	14.4	9.7	10.4
3	6.9	10.1	7.2	10.1
4	1.5	9.3	1.9	12.1
5	<1.1	-	<1.1	-
6	<1.1	-	<1.1	-

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	34.5	9.2	25.6	14.3
2	13.6	10.6	9.4	10.9
3	8.3	12.5	6.8	15.0
4	2.0	10.5	1.9	14.7
5	<1.1	-	<1.1	-
6	<1.1	-	<1.1	-

18. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 3 campioni con concentrazioni note di Vedolizumab. Sono state effettuate 8 diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 1.6 a 59.3 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFIA

- Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S,

Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 2013 Aug 22;369(8):711-21.

4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. Clin Pharmacokinet. 2017 Nov;56(11):1287-1301.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

For the quantitative detection of Vedolizumab in human serum

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB is an immunoassay kit for automated quantitative detection of Vedolizumab (VDZ) 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 Vedolizumab (VDZ), like patients with inflammatory bowel disease (IBD) and rheumatic diseases.

It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

Vedolizumab (VDZ) is a humanized IgG1 monoclonal antibody expressed in Chinese hamster ovary (CHO) cells that specifically binds the $\alpha 4\beta 7$ integrin which is expressed on a discrete subset of memory T helper lymphocytes, which preferably migrate to the gastrointestinal (GI) tract, causing inflammation characteristic of ulcerative colitis and Crohn's disease. VDZ reduces inflammation by improving symptoms, characterized by more acute phases followed by clinical remission, accompanied by abdominal pain, diarrhea and bleeding that limit the social and work activities of the patients who are affected. VDZ is a biological immunosuppressant with high selectivity for intestinal tract and is indicated for the treatment of adult patients with moderate to severe active ulcerative colitis or Crohn's disease who have had an inadequate response or been intolerant to conventional therapy, or to a tumor necrosis factor alpha (TNF α) antagonist. VDZ can potentially be immunogenic and induce the formation of anti-drug antibodies (ADA), thereby potentially reducing treatment efficacy. A gradual decrease in efficacy over time following an initial response to biologics is common.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB device is ready to use for the detection of Vedolizumab (VDZ) in human serum, in the CHORUS TRIO instrument.

The assay is based on a sandwich ELISA method.

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

VDZ is able to bind to preimmobilized anti-VDZ antibodies following incubation with the sample. After washing to remove the unbound sample, HRP-labelled anti-VDZ antibody (conjugate) is added. A second incubation step allows the

conjugate to bind to the VDZ that has become attached to the microwells. After washing to remove the excess of unbound conjugate, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding stop solution, which makes the solution turn to yellow. The color which develops is proportional to the amount of VDZ in the patient sample.

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

The results are expressed in $\mu\text{g/ml}$.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

Use the devices within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 2) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.

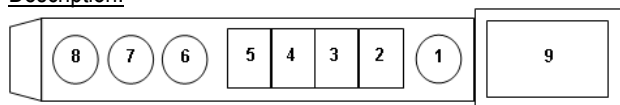
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the CHORUS TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.
The use of the kit is only possible with CHORUS TRIO with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see 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: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with anti-VDZ monoclonal antibody

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with anti-VDZ monoclonal antibody

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

HRP-labelled anti-VDZ antibody and buffer containing preservative

Position 3: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 2: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine stabilized in citrate buffer

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0.650 ml
Contents: Human serum containing VDZ, and preservative.
Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 1.100 ml
Contents: Human serum containing VDZ, 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 Vedolizumab (REF. 86710) 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 µg/ml, calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

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

POSITIVE: when the result is ≥ 1.5 µg/ml

NEGATIVE: when the result is ≤ 1.1 µg/ml

EQUIVOCAL: when the result is between 1.2 and 1.4 µg/ml

Equivocal results are obtained in case of values which ranges between Limit of detection (< 1.1 µg/ml) and Low Limit of Quantitation (1.5 µg/ml).

11. LIMITATIONS

The test measures free VDZ. It does not measure VDZ bound to anti-VDZ antibodies (immunocomplexes).

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

The test, indeed, cannot be used alone for patient management decisions and the test result should be evaluated together with the patient history, other clinical diagnostic evaluation and laboratory findings.

This product should only be used by appropriately trained laboratory professional personnel.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 1.1-60.0 µg/ml

For samples > 60.0 µg/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - not supplied with the kit).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, are negative, with values < 1.1 µg/ml.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples (1 Negative, 1 Low Positive and 1 High Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Bilirubin (4.5 mg/dl – 40 mg/dl)

Triglycerides (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

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.

2 Rheumatoid Factor (RF) positive samples (200 IU/mL) were spiked with Vedolizumab:

High level – 32.4 µg/ml

Medium level – 7.2 µg/ml

Low level – < 1.1 µg/ml

The presence of RF in the test serum does not alter the test result.

15. CROSS-REACTIONS

10 samples, not containing Vedolizumab, but containing IFX (10.8 µg/ml) - 5 samples and ADL (27.0 µg/ml) - 5 samples were tested.

No cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 170 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit (Promonitor VDZ ELISA kit). Data are summarized in the following table:

		Reference		
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Tot.	41	129	170

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI_{95%}: 91.4-99.9

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 97.1-100.0

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

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

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

Out of 170, for 41 positive samples the correlation between Diesse kit and a competitor kit was tested.

Data are summarized in the following table:

Correlation	r	95%CI
Pearson	0.95	0.91-0.97
Spearman	0.97	0.94-0.98

The correlation between the two methods is very high.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	27.1	7.2	24.3	9.1
2	10.7	14.4	9.7	10.4
3	6.9	10.1	7.2	10.1
4	1.5	9.3	1.9	12.1
5	<1.1	-	<1.1	-
6	<1.1	-	<1.1	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	34.5	9.2	25.6	14.3
2	13.6	10.6	9.4	10.9
3	8.3	12.5	6.8	15.0
4	2.0	10.5	1.9	14.7
5	<1.1	-	<1.1	-
6	<1.1	-	<1.1	-

18. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 3 samples with known concentration of Vedolizumab. For each sample 8 serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 1.6 – 59.3 µg/ml.

19. BIBLIOGRAPHY

1. Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
2. Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
3. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 2013 Aug 22;369(8):711-21.
4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

Pro kvantitativní stanovení vedolizumabu v lidském séru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB je imunoanalytická souprava pro automatizované kvantitativní stanovení vedolizumabu v lidském séru pomocí jednorázového nástroje aplikovaného na zařízení CHORUS TRIO.

Tento produkt použitý v kombinaci s dalšími klinickými a laboratorními výsledky slouží jako pomůcka při léčbě pacientů léčených vedolizumabem (VDZ), jako jsou pacienti se zánětlivým střevním onemocněním (IBD) a revmatickými chorobami.

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

2. ÚVOD

Vedolizumab (VDZ) je humanizovaná monoklonální IgG1 protilátka exprimovaná v buňkách vaječníků čínského křečka (CHO), která specificky váže integrin $\alpha 4\beta 7$, který je exprimován na určité podmnožině paměťových pomocných T lymfocytů, které přednostně migrují do gastrointestinálního (GI) traktu, což způsobuje zánět charakteristický pro ulcerózní kolitidu a Crohnovu chorobu. VDZ zmírňuje zánět tím, že snižuje příznaky, které se vyznačují akutnějšími fázemi, po nichž následuje klinická remise, doprovázená bolestmi břicha, průjmami a krvácením, které omezují společenské a pracovní aktivity postižených pacientů. VDZ je biologické imunosupresivum s vysokou selektivitou pro střevní trakt a je indikována k léčbě dospělých pacientů se středně těžkou až těžkou aktivní ulcerózní kolitidou nebo Crohnovou chorobou, kteří měli nedostatečnou odpověď nebo netolerovali konvenční léčbu nebo antagonistický faktor nádorové nekrózy alfa (TNF α). VDZ může být potenciálně imunogenní a indukovat tvorbu protilátek proti lékům (ADA), čímž potenciálně snižuje účinnost léčby. Postupné snižování účinnosti v průběhu času po počáteční odpovědi na léčbu je běžné.

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB je připraven k použití pro stanovení vedolizumabu v lidském séru, v zařízení CHORUS TRIO.

Test je založen na sendvičové metodě ELISA.

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

VDZ je schopna se po inkubaci se vzorkem vázat na předem imobilizovanou anti-VDZ. Po promytí, aby se odstranil nenavázaný vzorek, se přidá anti-VDZ protilátka značená HRP

(konjugát). Druhá inkubační fáze umožňuje konjugátu se vázat na VDZ, která ulpěla 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 VDZ přítomnému ve vzorku pacienta.

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

Výsledky jsou vyjádřeny v $\mu\text{g/ml}$.

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 anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. 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 nasazeny 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.**

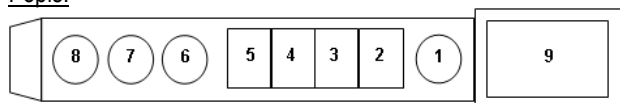
2. Pokud je vzorek přidán do jamky manuálně, zkontrolujte, zda je dokonale rozložen.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagentů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
4. Nástroje 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 tu, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz příslušná uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Vyvarujte se skladování vzorků 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: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervační látku

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální anti-VDZ protilátkou

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální anti-VDZ protilátkou

Pozice 5: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 4: KONJUGÁT

Obsah: Anti-VDZ protilátka značená HRP v pufru obsahujícím konzervační látku

Pozice 3: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervační látku

Pozice 2: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

Použití: nechte stabilizovat jedno balení při pokojové teplotě, poté jej otevřete a vyjměte potřebné nástroje; ostatní vraťte do balení 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 VDZ a konzervační látku.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 1,100 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující VDZ a konzervační látku.

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

Reagencie 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.

Reagencie 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. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.

Rozmražený vzorek 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 VEDOLIZUMAB (REF. 86710) lze provádět současně POUZE s ostatními testy CHORUS Promonitor.

- Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
- Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
- 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.

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

9. VALIDACE TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: je-li výsledek $\geq 1,5 \mu\text{g/ml}$
 NEGATIVNÍ: je-li výsledek $\leq 1,1 \mu\text{g/ml}$
 NEJEDNOZNAČNÝ: je-li výsledek mezi 1,2 a 1,4 µg/ml

Nejednoznačné výsledky se získají v případě hodnot, které se nacházejí v rozmezí mezi mezí detekce ($<1,1 \mu\text{g/ml}$) a nízkou mezí stanovitelnosti ($1,5 \mu\text{g/ml}$).

11. OMEZENÍ

Tento test měří volnou VDZ. Neměří imunokomplexy vytvořené mezi VDZ a anti-VDZ protilátkami.

Všechny získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí zohlednit další ukazatele související s pacientem.

Test nelze použít samostatně pro rozhodování o léčbě pacienta a výsledek testu by měl být hodnocen společně s anamnézou pacienta, dalšími klinickými diagnostickými vyšetřeními a laboratorními výsledky.

Tento produkt musí být používán výhradně odborným a příslušně vyškoleným laboratorním personálem.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 1,1-60,0 µg/ml

U vzorků $> 60,0 \mu\text{g/ml}$ 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 $<1,1 \mu\text{g/ml}$.

14. ANALYTICKÁ SPECIFITA

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

Bilirubin (4,5 mg/dl – 40 mg/dl)

Triglyceridy (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

Přítomnost výše uvedených interferenčních látek ve vzorku séra nemění výsledek testu.

2 pozitivní vzorky revmatoidního faktoru (RF) (200 IU/ml) byly doplněny vedolizumabem.

Vysoká hladina – 32,4 µg/ml

Nízká hladina – 7,2 µg/ml

Negativní – $< 1,1 \mu\text{g/ml}$

Přítomnost RF v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

Bylo testováno 10 vzorků, které neobsahovaly vedolizumab, ale obsahovaly IFX (10,8 AU/ml) – 5 vzorků a ADL (27,0 µg/ml) – 5 vzorků.

Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

16. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 170 vzorků pomocí soupravy Diesse a pomocí soupravy Promonitor VDZ ELISA. Data jsou shrnuta v následující tabulce:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Celkem	41	129	170

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

100,0% CI_{95%}: 91,4-99,9

Procento negativní konkordance (~ diagnostická specifita):

100,0% CI_{95%}: 97,1-100,0

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.

Ze 170 vzorků bylo 41 pozitivních vzorků testováno na korelaci mezi soupravou Diesse a jinou komerčně dostupnou soupravou.

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

Korelace	r	IC 95%
Pearson	0,95	0,91-0,97
Spearman	0,97	0,94-0,98

Korelace mezi těmito dvěma metodami je velmi vysoká.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	27,1	7,2	24,3	9,1
2	10,7	14,4	9,7	10,4
3	6,9	10,1	7,2	10,1
4	1,5	9,3	1,9	12,1
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	34,5	9,2	25,6	14,3
2	13,6	10,6	9,4	10,9
3	8,3	12,5	6,8	15,0
4	2,0	10,5	1,9	14,7
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

18. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 3 vzorků se známými koncentracemi vedolizumabu. Pro každý vzorek bylo provedeno 8 sériových ředění, která prokázala linearitu metody od 1,6 do 59,3 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. *J Crohns Colitis*. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
2. Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." *Inflamm Bowel Dis*. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
3. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med*. 2013 Aug 22;369(8):711-21.
4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics,

Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. *Clin Pharmacokinet*. 2017 Nov;56(11):1287-1301.



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

Für die quantitative Bestimmung von Vedolizumab in Humanserum

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

CHORUS Promonitor ANTI-VEDOLIZUMAB ist ein Immunoassay-Testsatz für die automatisierte quantitative Bestimmung von Anti-Vedolizumab 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 Vedolizumab (VDZ) verabreicht wird, wie Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) und rheumatischen Erkrankungen.

Es darf nur von professionellen Labortechnikern verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Vedolizumab (VDZ) ist ein humanisierter monoklonaler IgG1-Antikörper, der in Ovarienzellen des chinesischen Hamsters (CHO) exprimiert wird. Er bindet spezifisch das $\alpha 4 \beta 7$ -Integrin, das auf einer bestimmten Untergruppe von T-Helfer-Lymphozyten mit Gedächtnisfunktion exprimiert wird, die bevorzugt in den Magen-Darm-Trakt einwandern und dort die für Colitis ulcerosa und Morbus Crohn charakteristische Entzündung verursachen. VDZ reduziert die Entzündung durch eine Verbesserung der Symptome, die durch akute Phasen gefolgt von einer klinischen Remission gekennzeichnet sind, begleitet von Bauchschmerzen, Durchfall und Blutungen, die die sozialen und beruflichen Aktivitäten der betroffenen Patienten einschränken. VDZ ist ein biologisches Immunsuppressivum mit hoher Selektivität für den Darmtrakt und für die Behandlung erwachsener Patienten mit mittelschwerer bis schwerer aktiver Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn indiziert, die auf eine konventionelle Therapie oder einen Tumornekrosefaktor-alpha (TNF α)-Antagonisten nur unzureichend angesprochen haben oder diese nicht vertragen. VDZ kann potenziell immunogen sein und die Bildung von Anti-Drug-Antikörpern (ADA) induzieren, wodurch die Wirksamkeit der Behandlung möglicherweise verringert wird. Eine allmähliche Abnahme der Wirksamkeit im Laufe der Zeit nach einem anfänglichen Ansprechen auf Arzneimittel ist üblich.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Vedolizumab in Humanserum im Laboranalysator CHORUS TRIO.

Der Test basiert auf dem Prinzip des Sandwich-ELISA-Verfahrens.

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

VDZ ist in der Lage, sich nach der Inkubation mit der Probe an das vorimmobilisierte Anti-VDZ zu binden. Nach dem Waschen zur Entfernung der ungebundenen Probe wird ein HRP-markierter Anti-VDZ-Antikörper (Konjugat) zugegeben. Im zweiten Inkubationsschritt kann sich das Konjugat an das VDZ binden, das an den Vertiefungen der Mikroplatte haftet.

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

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

Die Ergebnisse sind in $\mu\text{g/ml}$ ausgedrückt.

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 beschmutzte 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 Testsatzes 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 Diese-Website veröffentlichte oder eine höhere Version (Rel.) handelt

[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](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 hämolysierten, lipämischen, ikterischen Proben, von unvollständig koagulierte Serum oder Proben mit mikrobieller Kontamination kann eine Fehlerquelle darstellen.
12. Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

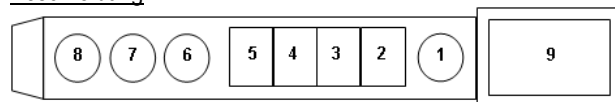
13. Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Waschpuffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Testkit reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit humanem monoklonalem Anti-VDZ-Antikörper beschichtet

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Mit humanem monoklonalem Anti-VDZ-Antikörper beschichtet

Position 5: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 4: KONJUGAT

Inhalt: HRP-markierter Anti-VDZ-Antikörper 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 mit VDZ und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE **1 x 1.100 ml**

Inhalt: Humanserum mit VDZ und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY **REF.** 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF.** 83609
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG **REF.** 83604
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/ROBENVERDÜNNUNGSMITTE 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 REAGENZIE

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 VEDOLIZUMAB-Test (REF. 86710) 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 µg/ml, die aufgrund einer vom Analysator gespeicherten chargenabhängigen Grafik berechnet werden.

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt ausgelegt werden:

POSITIV: bei Ergebnis $\geq 1,5$ µg/ml

NEGATIV: bei Ergebnis $\leq 1,1$ µg/ml

MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 1,2 und 1,4 µg/ml

Mehrdeutige Ergebnisse werden erzielt, wenn die Werte im Bereich zwischen der Nachweisgrenze ($< 1,1$ µg/ml) und der unteren Quantifizierungsgrenze (1,5 µg/ml) liegen.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Mit diesem Assay wird der freie VDZ gemessen. Nicht gemessen werden die Immunkomplexe, die aus VDZ und den Anti-VDZ-Antikörpern gebildet werden.

Alle erhaltenen Werte erfordern eine sorgfältige Auslegung, bei der andere Indikatoren mit Bezug auf den einzelnen Patienten berücksichtigt werden müssen.

Der Test darf nicht allein für Entscheidungen im Patientenmanagement verwendet werden und das Testergebnis muss in Verbindung mit der Krankengeschichte des Patienten, anderen klinisch-diagnostischen Bewertungen und Laborergebnissen ausgewertet werden.

Dieses Produkt darf nur von ausreichend geschultem, professionellem Laborpersonal verwendet werden.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 1,1–60,0 µg/ml

Bei Proben $> 60,0$ µg/ml den Test wiederholen und die Probe zuvor mit Negativer Kontrolle/Probenverdünnungsmedium (REF. 83607 - nicht im Testsatz enthalten) verdünnen.

13. REFERENZBEREICH

In der Normalbevölkerung sind die Erwartungswerte, ermittelt durch die Untersuchung von 120 Seren gesunder Spender, mit Werten $< 1,1$ µg/ml negativ.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

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

Bilirubin (4,5 mg/dl–40 mg/dl)
Triglyceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hämoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

Die Präsenz der oben aufgeführten Störsubstanzen in der Serumprobe verändert das Testergebnis nicht.

Zu 2 positiven (RF) Rheumafaktor-Proben (200 IE/ml) wurde Vedolizumab hinzugefügt.

Hoher Spiegel – 32,4 µg/ml
Niedriger Spiegel – 7,2 µg/ml
Negativ – <1,1 µg/ml

Das Vorhandensein von RF im Testserum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 10 Proben getestet, die kein Vedolizumab enthielten, dafür aber IFX (10,8 µg/ml) - 5 Proben und ADL (27,0 µg/ml) - 5 Proben.

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHSTUDIEN

In einem Versuch wurden 170 Proben mit dem Diesse-Testsatz und dem Promonitor VDZ ELISA-Testsatz getestet. Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Insgesamt	41	129	170

Positive Übereinstimmungsrate (~diagnostische Sensitivität):

100,0 % CI₉₅ %: 91,4–99,9

Negative Übereinstimmungsrate: (~diagnostische Spezifität):

100,0 % CI₉₅ %: 97,1–100,0

Positiver Vorhersagewert (PPV): 100,0 % KI₉₅ %: 100,0–100,0

Negativer Vorhersagewert (NPV): 100,0 % CI₉₅ %: 100,0–100,0

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

Von den 170 Proben wurde die Korrelation zwischen dem Diesse-Testsatz und einem anderen auf dem Markt erhältlichen Testsatz an 41 positiven Proben getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Korrelation	r	95 % KI
Pearson	0,95	0,91–0,97
Spearman	0,97	0,94–0,98

Die Korrelation zwischen den beiden Methoden ist sehr hoch.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs	Zwischen Durchläufen
-------	----------------------------	----------------------

	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	27,1	7,2	24,3	9,1
2	10,7	14,4	9,7	10,4
3	6,9	10,1	7,2	10,1
4	1,5	9,3	1,9	12,1
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	34,5	9,2	25,6	14,3
2	13,6	10,6	9,4	10,9
3	8,3	12,5	6,8	15,0
4	2,0	10,5	1,9	14,7
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

18. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 3 Proben mit bekannten Konzentrationen von Vedolizumab bewertet. Für jede Probe wurden Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 1,6 bis 59,3 µg/ml nachgewiesen wurde.

19. LITERATUR

- Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 2013 Aug 22;369(8):711-21.
- Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. Clin Pharmacokinet. 2017 Nov;56(11):1287-1301.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

Para la determinación cuantitativa de Vedolizumab en suero humano

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB es un kit de inmunoensayo para la determinación semicuantitativa automatizada de Vedolizumab en suero humano con dispositivo desechable aplicado al equipo CHORUS TRIO. Utilizado en combinación con otros resultados clínicos y de laboratorio, el producto es útil como ayuda en la gestión de los pacientes tratados con Vedolizumab (VDZ), como los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y enfermedades reumáticas.

Para uso exclusivo de técnicos de laboratorio profesionales.

2. INTRODUCCIÓN

Vedolizumab (VDZ) es un anticuerpo monoclonal IgG1 humanizado expresado en células de ovario de hámster chino (CHO) que se une específicamente a la integrina $\alpha 4 \beta 7$ que se expresa en un subconjunto discreto de células T auxiliares de la memoria, que preferiblemente migran al tracto gastrointestinal (GI), causando inflamación característica de la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. VDZ reduce la inflamación al mejorar los síntomas, caracterizados por fases más agudas seguidas de remisión clínica, acompañadas de dolor abdominal, diarrea y sangrado que limitan las actividades sociales y laborales de los pacientes afectados. VDZ es un inmunosupresor biológico altamente selectivo para el tracto intestinal y está indicado para el tratamiento de pacientes adultos con colitis ulcerosa activa de moderada a grave o enfermedad de Crohn que han tenido una respuesta inadecuada o han sido intolerantes a la terapia convencional, o a un factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) antagonista. VDZ puede ser potencialmente inmunogénico e inducir la formación de anticuerpos antidrogas (ADA), lo que reduce potencialmente la eficacia del tratamiento. Es común una disminución gradual de la eficacia con el tiempo después de una respuesta inicial a los fármacos.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB está listo para su uso para la determinación de Vedolizumab en suero humano, en el equipo CHORUS TRIO.

La prueba se basa en un método ELISA de tipo sándwich.

Los pocillos de las microplacas están recubiertos previamente con un anticuerpo monoclonal anti-VDZ. El calibrador, el

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

El VDZ puede unirse al anti-VDZ preinmovilizado tras la incubación con la muestra. Tras el lavado para eliminar la muestra no unida, se añade un anticuerpo anti-VDZ marcado con HRP (conjugado). Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una al VDZ que se ha 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 VDZ presente en la muestra del paciente.

Los productos de un solo uso contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con el equipo CHORUS TRIO.

Los resultados se expresan en $\mu\text{g/ml}$.

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.

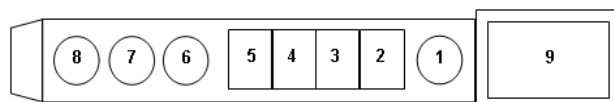
1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Si se añade la muestra al pocillo manualmente, comprobar que esté distribuida perfectamente.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia 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: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con anticuerpo monoclonal humano anti-VDZ

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con anticuerpo monoclonal humano anti-VDZ

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M

Posición 4: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpo anti-VDZ 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 VDZ y conservante.

Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO 1 x 1,100 ml

Contenido: Suero humano que contiene VDZ 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 VEDOLIZUMAB (REF. 86710) 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 µg/ml.

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es $\geq 1,5$ µg/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es $\leq 1,1$ µg/ml

AMBIGUO: cuando el resultado está comprendido entre 1,2 y 1,4 µg/ml

Se obtienen resultados ambiguos en caso de valores que se encuentren en el rango entre el límite de detección (<1,1 AU/ml) y el límite bajo de cuantificación (1,5 AU/ml).

11. LIMITACIONES

Este ensayo mide la VDZ libre. No mide los complejos inmunes formados entre VDZ y anticuerpos anti-VDZ.

Todos los valores obtenidos requieren una interpretación cuidadosa que debe considerar otros indicadores relacionados con el paciente.

Esta prueba, por sí sola, no se debe utilizar para tomar decisiones sobre la gestión del paciente, y el resultado de la prueba debe evaluarse junto con el historial médico del paciente, con otros exámenes de diagnóstico clínico y con los resultados de laboratorio.

El producto es para uso exclusivo de personal profesional de laboratorio adecuadamente formado.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 1,1-60,0 µg/ml

Para las muestras >60,0 µg/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

13. RANGO DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante el análisis de 120 sueros de donantes sanos, son negativos con valores <1,1 µg/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

Bilirrubina (4,5 mg/dl – 40 mg/dl)

Triglicéridos (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Hemoglobina (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

La presencia de las sustancias mencionadas anteriormente en la muestra de suero no altera el resultado de la prueba.

Se añadió Vedolizumab a 2 muestras Factor Reumatoides positivas (200 UI/ml).

Nivel alto – 32,4 µg/ml

Nivel bajo – 7,2 µg/ml

Negativo – <1,1 µg/ml

La presencia de RF en el suero analizado no altera el resultado de la prueba.

15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 10 muestras que no contenían Vedolizumab, pero que contenían IFX (10,8 µg/ml) – 5 muestras y ADL (27,0 µg/ml) – 5 muestras.

No se encontraron reacciones cruzadas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba, se analizaron 170 muestras con el kit Diesse y con un test de Promonitor VDZ ELISA.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Total	41	129	170

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100,0 % CI₉₅ %: 91,4-99,9

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

100,0 % CI₉₅ %: 97,1-100,0

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

Valor predictivo negativo (VPN): 100,0 % CI₉₅ %: 100,0-100,0

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

De las 170 muestras, se probó en 41 muestras positivas la correlación entre el kit Diesse y otro kit comercial.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

Correlación	r	IC del 95 %
Pearson	0,95	0,91-0,97
Spearman	0,97	0,94-0,98

La correlación entre los dos métodos es muy alta.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	27,1	7,2	24,3	9,1
2	10,7	14,4	9,7	10,4
3	6,9	10,1	7,2	10,1
4	1,5	9,3	1,9	12,1
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%

1	34,5	9,2	25,6	14,3
2	13,6	10,6	9,4	10,9
3	8,3	12,5	6,8	15,0
4	2,0	10,5	1,9	14,7
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

18. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 3 muestras con concentraciones conocidas de Vedolizumab. Se realizaron 8 diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 1,6 a 59,3 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFÍA

- Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 2013 Aug 22;369(8):711-21.
- Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. Clin Pharmacokinet. 2017 Nov;56(11):1287-1301.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

For the quantitative detection of Vedolizumab in human serum

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB is an immunoassay kit for automated quantitative detection of Vedolizumab (VDZ) 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 Vedolizumab (VDZ), like patients with inflammatory bowel disease (IBD) and rheumatic diseases.

It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

Vedolizumab (VDZ) is a humanized IgG1 monoclonal antibody expressed in Chinese hamster ovary (CHO) cells that specifically binds the $\alpha 4\beta 7$ integrin which is expressed on a discrete subset of memory T helper lymphocytes, which preferably migrate to the gastrointestinal (GI) tract, causing inflammation characteristic of ulcerative colitis and Crohn's disease. VDZ reduces inflammation by improving symptoms, characterized by more acute phases followed by clinical remission, accompanied by abdominal pain, diarrhea and bleeding that limit the social and work activities of the patients who are affected. VDZ is a biological immunosuppressant with high selectivity for intestinal tract and is indicated for the treatment of adult patients with moderate to severe active ulcerative colitis or Crohn's disease who have had an inadequate response or been intolerant to conventional therapy, or to a tumor necrosis factor alpha (TNF α) antagonist. VDZ can potentially be immunogenic and induce the formation of anti-drug antibodies (ADA), thereby potentially reducing treatment efficacy. A gradual decrease in efficacy over time following an initial response to biologics is common.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB device is ready to use for the detection of Vedolizumab (VDZ) in human serum, in the CHORUS TRIO instrument.

The assay is based on a sandwich ELISA method.

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

VDZ is able to bind to preimmobilized anti-VDZ antibodies following incubation with the sample. After washing to remove the unbound sample, HRP-labelled anti-VDZ antibody (conjugate) is added. A second incubation step allows the conjugate to bind to the VDZ that has become attached to the microwells. After washing to remove the excess of unbound conjugate, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding stop solution, which makes the solution turn to yellow. The color which develops is proportional to the amount of VDZ in the patient sample.

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

The results are expressed in $\mu\text{g/ml}$.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

Use the devices within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 2) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the CHORUS TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.

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

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

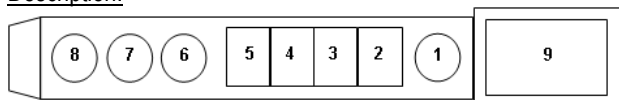
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see 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: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with anti-VDZ monoclonal antibody

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with anti-VDZ monoclonal antibody

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

HRP-labelled anti-VDZ antibody and buffer containing preservative

Position 3: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 2: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine stabilized in citrate buffer

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

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

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.650 ml

Contents: Human serum containing VDZ, and preservative.

Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 1.100 ml

Contents: Human serum containing VDZ, 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 Vedolizumab (REF. 86710) 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 µg/ml, calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

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

POSITIVE: when the result is ≥ 1.5 µg/ml

NEGATIVE: when the result is ≤ 1.1 µg/ml

EQUIVOCAL: when the result is between 1.2 and 1.4 µg/ml

Equivocal results are obtained in case of values which ranges between Limit of detection (< 1.1 µg/ml) and Low Limit of Quantitation (1.5 µg/ml).

11. LIMITATIONS

The test measures free VDZ. It does not measure VDZ bound to anti-VDZ antibodies (immunocomplexes).

All the values obtained require a careful interpretation that must consider other indicators relative to the patient.

The test, indeed, cannot be used alone for patient management decisions and the test result should be evaluated together with the patient history, other clinical diagnostic evaluation and laboratory findings.

This product should only be used by appropriately trained laboratory professional personnel.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 1.1-60.0 µg/ml

For samples > 60.0 µg/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - not supplied with the kit).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, are negative, with values < 1.1 µg/ml.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples (1 Negative, 1 Low Positive and 1 High Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Bilirubin (4.5 mg/dl – 40 mg/dl)
Triglycerides (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
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.

2 Rheumatoid Factor (RF) positive samples (200 IU/mL) were spiked with Vedolizumab:

High level – 32.4 µg/ml
Medium level – 7.2 µg/ml
Low level – < 1.1 µg/ml

The presence of RF in the test serum does not alter the test result.

15. CROSS-REACTIONS

10 samples, not containing Vedolizumab, but containing IFX (10.8 µg/ml) - 5 samples and ADL (27.0 µg/ml) - 5 samples were tested.

No cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 170 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit (Promonitor VDZ ELISA kit). Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Tot.	41	129	170

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI_{95%}: 91.4-99.9

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 97.1-100.0

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

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

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

Out of 170, for 41 positive samples the correlation between Diesse kit and a competitor kit was tested.

Data are summarized in the following table:

Correlation	r	95%CI
Pearson	0.95	0.91-0.97
Spearman	0.97	0.94-0.98

The correlation between the two methods is very high.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	27.1	7.2	24.3	9.1
2	10.7	14.4	9.7	10.4
3	6.9	10.1	7.2	10.1
4	1.5	9.3	1.9	12.1
5	<1.1	-	<1.1	-
6	<1.1	-	<1.1	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	34.5	9.2	25.6	14.3
2	13.6	10.6	9.4	10.9
3	8.3	12.5	6.8	15.0
4	2.0	10.5	1.9	14.7
5	<1.1	-	<1.1	-
6	<1.1	-	<1.1	-

19. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 3 samples with known concentration of Vedolizumab. For each sample 8 serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 1.6 – 59.3 µg/ml.

19. BIBLIOGRAPHY

1. Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
2. Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
3. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as

induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 2013 Aug 22;369(8):711-21.

4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. Clin Pharmacokinet. 2017 Nov;56(11):1287-1301.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

Para a determinação quantitativa de Vedolizumab em soro humano

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor ANTI-VEDOLIZUMAB é um kit de imunoensaio para a determinação quantitativa automatizada do anti-Vedolizumab 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 Vedolizumab (VDZ), tais como doentes com doença inflamatória intestinal (DII) e doenças reumáticas.

Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

O Vedolizumab (VDZ) é um anticorpo monoclonal IgG1 humanizado expresso em células do ovário de hamster chinês (CHO) que liga especificamente a integrina $\alpha 4\beta 7$ que é expressa num subconjunto discreto de linfócitos T auxiliares de memória, que migram preferencialmente para o trato gastrointestinal (GI), causando inflamação característica da colite ulcerosa e da doença de Crohn. O VDZ reduz a inflamação através da melhoria dos sintomas, caracterizados por fases mais agudas seguidas de remissão clínica, acompanhadas de dor abdominal, diarreia e hemorragias que limitam as atividades sociais e de trabalho dos doentes afetados. O VDZ é um imunossupressor biológico com alta seletividade para o trato intestinal e é indicado para o tratamento de doentes adultos com colite ulcerosa ativa de moderada a grave ou com doença de Crohn que tiveram uma resposta inadequada ou foram intolerantes à terapia convencional, ou a um fator de necrose tumoral alfa (TNF α) antagonista. O VDZ pode ser potencialmente imunogénico e induzir a formação de anticorpos antifármaco (AAF), reduzindo assim potencialmente a eficácia do tratamento. É comum uma diminuição gradual da eficácia ao longo do tempo, após uma resposta inicial à medicação.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Chorus Promonitor VEDOLIZUMAB está pronto a ser utilizado para a determinação de Vedolizumab em soro humano, no instrumento CHORUS TRIO.

O teste é baseado num método ELISA em sanduíche.

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

A VDZ é capaz de se ligar ao anti-VDZ pré-imobilizado após a incubação com a amostra. Após a lavagem para remover a amostra não ligada, é adicionado um anticorpo anti-VDZ marcado com HRP (conjugado). Uma segunda fase de incubação permite que o conjugado se ligue ao VDZ que aderiu 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 VDZ presente na amostra do doente.

Os dispositivos de utilização única contêm todos os reagentes para efetuar o teste quando aplicados aos instrumentos CHORUS TRIO.

Os resultados são expressos em $\mu\text{g/ml}$.

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/>)

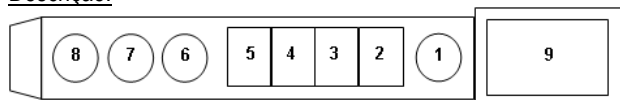
5. Certificar-se de que o instrumento CHORUS TRIO está bem configurado (ver respetivo Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. 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, ictéricas, 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: TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com anticorpo monoclonal humano anti-VDZ

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com anticorpo monoclonal humano anti-VDZ

Posição 5: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 4: CONJUGADO

Conteúdo: Anticorpo Anti-VDZ 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 VDZ e conservante.

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 1,100 ml

Conteúdo: Soro humano que contém VDZ e conservante.

Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

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

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

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

7. RECOLHA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

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

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

O soro fresco pode ser conservado durante 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 VEDOLIZUMAB (REF. 86710) 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 os exames e guardar os restantes, fechando novamente o invólucro após 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 µg/ml calculado com base num gráfico dependente do lote memorizado no instrumento.

O teste no soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for $\geq 1,5$ µg/ml

NEGATIVO: quando o resultado for $\geq 1,1$ µg/ml

DUVIDOSO: quando o resultado está entre 1,2 e 1,4 µg/ml

São obtidos resultados duvidosos quando os valores estão na faixa entre o limite de deteção (<1,1 µg/ml) e o limite de quantificação baixo (1,5 µg/ml).

11. LIMITAÇÕES

Esta dosagem mede o VDZ livre. Não mede os complexos imunitários formados entre VDZ e os anticorpos anti-VDZ.

Todos os valores obtidos requerem uma interpretação cuidadosa que deve ter em conta outros indicadores referentes ao doente.

O teste não pode ser utilizado sozinho para decisões relativas à gestão do doente e o resultado do teste deve ser avaliado em conjunto com a história do doente, outras avaliações de diagnóstico clínico e resultados laboratoriais.

O presente produto só deve ser utilizado por pessoal profissional devidamente formado.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 1,1-60,0 µg/ml

Para amostras > 60,0 µg/ml repetir o teste diluindo a amostra com Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - não fornecido com o kit).

13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados pelo exame de 120 soros de doadores saudáveis são negativos, com valores <1,1 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 (4,5 mg/dl - 40 mg/dl)
Triglicéridos (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

A presença na amostra de soro das substâncias interferentes acima enumeradas não afeta o resultado do teste.

A 2 amostras Fator Reumatoide (FR) positivas (200 UI/ml) foi adicionado Anti-Vedolizumab.

Nível elevado - 32,4 µg/ml
Nível Baixo - 7,2 µg/ml
Negativo - <1,1 µg/ml

A presença de RF no soro examinado não altera o resultado do teste.

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 10 amostras, que não continham Vedolizumab mas que continham IFX (10,8 µg/ml) - 5 amostras, ADL (27,0 µg/ml) - 5 amostras.

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 170 amostras com o kit Diesse e com o kit Promonitor VDZ ELISA.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Total	41	129	170

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

100,0% CI_{95%}: 91,4-99,9

Percentagem de concordância negativa (~ especificidade diagnóstica):

100,0% CI_{95%}: 97,1-100,0

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

Valor Preditivo Negativo (VPN): 100,0% CI_{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.

Das 170 amostras, em 41 amostras positivas foi testada a correlação entre o kit Diesse e outro kit disponível no mercado.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

Correlação	r	IC 95%
Pearson	0,95	0,91-0,97
Spearman	0,97	0,94-0,98

A correlação entre os dois métodos é muito elevada.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	27,1	7,2	24,3	9,1
2	10,7	14,4	9,7	10,4
3	6,9	10,1	7,2	10,1
4	1,5	9,3	1,9	12,1
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	34,5	9,2	25,6	14,3
2	13,6	10,6	9,4	10,9
3	8,3	12,5	6,8	15,0
4	2,0	10,5	1,9	14,7
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

18. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 3 amostras com concentrações conhecidas de Vedolizumab. Foram realizadas diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 1,6 a 59,3 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFIA

1. Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic

Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.

2. Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.

3. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 2013 Aug 22;369(8):711-21.

4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. Clin Pharmacokinet. 2017 Nov;56(11):1287-1301.



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB

Pentru determinarea cantitativă a Vedolizumab în serul uman

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZARE

CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB este un kit de imunodozare pentru determinarea cantitativă automatizată a Vedolizumab în serul uman cu un dispozitiv de unică folosință aplicat la instrumentul CHORUS TRIO.

Produsul, utilizat împreună cu alte rezultate clinice și de laborator, este util ca ajutor în gestionarea pacienților tratați cu Vedolizumab (VDZ), cum ar fi pacienții suferinzi de boala inflamatorie a intestinului (IBD) și de afecțiuni reumatice.

Acesta trebuie utilizat numai de către tehnicienii profesioniști de laborator.

2. INTRODUCERE

Vedolizumab (VDZ) este un anticorp monoclonal umanizat IgG1 exprimat în celulele ovarelor de hamster chinezesc (CHO) care leagă în mod specific integrina $\alpha 4\beta 7$ care este exprimată pe un subset discret de limfocite T helper de memorie, care migrează de preferință în tractul gastrointestinal (GI), provocând inflamație caracteristică colitei ulcerative și bolii Crohn. VDZ reduce inflamația ameliorând simptomele, caracterizate prin faze mai acute urmate de remisiune clinică, însoțite de dureri abdominale, diaree și sângerare care limitează activitățile sociale și profesionale ale pacienților afectați. VDZ este un imunosupresor biologic foarte selectiv pentru tractul intestinal și este indicat pentru tratamentul pacienților adulți cu colită ulcerativă activă moderată până la severă sau cu boala Crohn, care au avut un răspuns inadecvat sau au fost intoleranți la terapia convențională sau la un factor de necroză tumorală alfa (TNF α) antagonist. VDZ poate fi potențial imunogen și poate induce formarea de anticorpi anti-medicament (ADA), reducând astfel potențialul eficacității tratamentului. Se produce frecvent o scădere treptată a eficacității în timp, ca urmare a unui răspuns inițial la medicamente.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB este gata de utilizare pentru determinarea Vedolizumab în serul uman, în instrumentul CHORUS TRIO.

Testul se bazează pe metoda ELISA sandwich.

Godeurile microplăcilor sunt pre-acoperite cu un anticorp monoclonal anti-VDZ. Calibratorul, controlul pozitiv și probele sunt adăugate la un dispozitiv separat.

VDZ este capabil să se lege de anti-VDZ pre-imobilizat după incubarea cu proba. După spălare pentru a îndepărta proba nelegată, se adaugă un anticorp anti-VDZ marcat cu HRP

(conjugat). O a doua etapă de incubare permite conjugatului să se lege de VDZ care a aderat la godeurile microplăcii.

După spălarea pentru eliminarea conjugatului nelegat, se adaugă substratul de peroxidază. Reacția enzimatică este întreruptă prin adăugarea soluției de stopare, care îngălbenește soluția. Culoarea care se dezvoltă este proporțională cu cantitatea de VDZ prezentă în proba pacientului.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului atunci când sunt aplicate pe instrumentul CHORUS TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în $\mu\text{g/ml}$.

4. AVERTISMENTE ȘI PRECAUȚII

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE *IN VITRO*

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au generat un răspuns negativ pentru prezența HbsAg și pentru anticorpilor împotriva HIV-1, HIV-2 și HCV. Deoarece niciun test de diagnostic nu poate oferi o asigurare completă privind lipsa agenților infecțioși, orice material de origine umană ar trebui considerat ca fiind potențial infectat. Respectați toate măsurile de precauție adoptate în mod normal în practica de laborator atunci când manipulați material de origine umană.

Eliminarea reziduurilor: probele de ser, calibratoarele și benzile folosite trebuie tratate ca reziduuri contaminate și trebuie eliminate în conformitate cu prevederile legilor în vigoare.

Informații privind sănătatea și siguranța

1. Nu pipetați cu gura.
2. Folosiți mănuși de unică folosință și protecție pentru ochi atunci când manipulați probele.
3. Spălați-vă bine mâinile după introducerea dispozitivelor în instrumentul CHORUS TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibilă la cerere).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Pentru a asigura o dezinfectare eficientă, ar putea fi necesară o expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu 1%.
6. Orice scurgeri de materiale potențial infectat trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu hipoclorit de sodiu 1%, înainte de a continua lucrul. Dacă scurgerea conține un acid, uscați zona contaminată înainte de a utiliza hipocloritul de sodiu. Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu introduceți în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

Înainte de utilizare, aduceți dispozitivele care urmează să fie utilizate la temperatura camerei (18-30°C) timp de cel puțin 30 de minute și utilizați-le în interval de 60 de minute.

1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 2) colorat în albastru.**
2. Dacă proba este adăugată manual în godeu, verificați să fie distribuită perfect.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.
4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul CHORUS TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.
Utilizarea kitului este posibilă numai cu CHORUS TRIO cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument este o versiune (Ver.) corespunzătoare sau ulterioară celei prezentate în tabelul publicat pe site-ul Diesse
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Verificați dacă instrumentul CHORUS TRIO este setat corect (consultați Manualul de utilizare aferent).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
8. Eventualele coduri de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de utilizare al CHORUS TRIO).
9. În cazul utilizării instrumentului CHORUS Autosampler (REF 81210), consultați Manualul de utilizare corespunzător.
10. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau la vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
11. Utilizarea de probe puternic hemolizate, lipemice, icterice, de ser incomplet coagulat sau de probe cu contaminare microbiană poate constitui o sursă de eroare.
12. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
13. **Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare de autoimunitate (Ref. 86004).**

5. COMPOZIȚIA KITULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kitul este suficient pentru 36 de determinări.

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 9: Spațiu disponibil pentru eticheta codului de bare

Poziția 8: TAMPON DE DILUARE

Conținut: soluție tampon care conține conservant

Poziția 7: GODEU DE MICROPLACĂ

Acoperit cu anticorp monoclonal uman anti-VDZ

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

Acoperit cu anticorp monoclonal uman anti-VDZ

Poziția 5: SOLUȚIE DE STOPARE

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M

Poziția 4: CONJUGAT

Conținut: Anticorp anti-VDZ marcat cu HRP în tampon care conține conservant

Poziția 3: TAMPON DE DILUARE

Conținut: soluție tampon care conține conservant

Poziția 2: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidină stabilizată în tampon citrat

Poziția 1: GODEU GOL

În care trebuie transferată proba.

Utilizare: echilibrați o pungă la temperatura camerei, deschideți punga și scoateți dispozitivele necesare; introduceți-le pe celelalte la loc în punga care conține silicagel, lăsați aerul să iasă și **sigilați** apăsând pe închidere. A se păstra la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR 1 x 0,650 ml

Conținut: Ser uman care conține VDZ și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 1,100 ml

Conținut: Ser uman care conține VDZ și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- Instrumentul CHORUS TRIO
- Apă distilată sau deionizată
- Sticla normală de laborator: cilindri, eprubete etc.
- Micropipete capabile să extragă cu precizie volume de 50-200 µl
- Mănuși de unică folosință
- Soluție de hipoclorit de sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potențial infectate

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie păstrați la 2/8°C. În cazul unei temperaturi incorecte de depozitare, este necesar să repetați calibrarea și să verificați corectitudinea rezultatului folosind serul de control (vezi capitolul 9: Validarea testului).

Data de expirare este tipărită pe fiecare componentă și pe eticheta kitului.

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere:

DISPOZITIVE	8 săptămâni la 2/8 °C
CALIBRATOR	8 săptămâni la 2/8 °C
CONTROL POZITIV	8 săptămâni la 2/8 °C

7. COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR

Proba constă în serul obținut din sângele recoltat prin puncție venoasă normală și manipulat adoptând măsurile de precauție cerute în procedurile standard de laborator.

Consecințele utilizării altor fluide biologice nu sunt cunoscute.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 5 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la -20°C.

Proba poate fi supusă unui număr maxim de 3 decongelări. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor. După decongelare, agitați cu atenție proba înainte de dozare.

Se recomandă insistent să se evite orice tratament intensiv al probelor.

Calitatea probei poate fi grav afectată de contaminarea microbiană care poate conduce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA

Testul CHORUS Promonitor VEDOLIZUMAB (REF. 86710) poate fi efectuat simultan NUMAI cu celelalte teste CHORUS Promonitor.

1. Deschideți punga (partea care conține sigiliul de presiune), scoateți numărul de dispozitive necesare efectuării testelor și păstrați-le pe celelalte închizând punga la loc după eliberarea aerului.
2. Verificați vizual starea dispozitivului conform indicațiilor din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv:

PROBĂ	130 µl/dispozitiv
CALIBRATOR	130 µl/dispozitiv
CONTROL POZITIV	130 µl/dispozitiv

La fiecare schimbare de lot, utilizați un dispozitiv pentru calibrator.

4. Introduceți dispozitivele pe instrumentul CHORUS TRIO. Efectuați calibrarea (dacă este necesar) și testarea după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatelor obținute, procesându-l după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul semnalează că controlul pozitiv are o valoare în afara limitei acceptabile, este necesar să se efectueze din nou calibrarea. Rezultatele anterioare vor fi corectate automat.

Dacă rezultatul controlului pozitiv continuă să se încadreze în afara intervalului acceptabil, contactați Serviciul de asistență științifică.

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul CHORUS TRIO oferă rezultatul în µg/ml, calculat pe baza unui grafic dependent de lot stocat în instrument.

Testul pe serul examinat poate fi interpretat astfel:

POZITIV: când rezultatul este $\geq 1,5$ µg/ml
NEGATIV: când rezultatul este $\leq 1,1$ µg/ml
ECHIVOC: când rezultatul este cuprins între 1,2 și 1,4 µg/ml

Se obțin rezultate echivoce în cazul valorilor care se încadrează în intervalul cuprins între limita de detecție (<1,1 µg/ml) și limita inferioară de cuantificare (1,5 µg/ml).

11. LIMITĂRI

Acest test măsoară VDZ liber. Nu măsoară complexe imune formate între VDZ și anticorpii anti-VDZ.

Toate valorile obținute necesită o interpretare atentă care trebuie să țină cont de alți indicatori referitori la pacient.

Testul nu poate fi utilizat singur pentru deciziile de management al pacientului, iar rezultatul testului trebuie evaluat împreună cu anamneza pacientului, cu alte evaluări clinice de diagnostic și cu rezultatele de laborator.

Acest produs trebuie utilizat numai de către personal profesionist de laborator instruit în mod corespunzător.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare: 1,1-60,0 µg/ml

Pentru probe > 60,0 µg/ml, repetați testul diluând proba cu Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - nu este furnizat împreună cu kitul).

13. INTERVAL DE REFERINȚĂ

La populația normală, valorile așteptate, determinate prin examinarea a 120 de seruri de la donatori sănătoși, sunt negative, cu valori <1,1 µg/ml.

14. SPECIFICITATE ANALITICĂ

Au fost testate 3 probe (1 Negativă, 1 Slab pozitivă și 1 Puternic pozitivă) la care s-au adăugat următorii interferenți:

Bilirubină (4,5 mg/dl – 40 mg/dl)
Trigliceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobină (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

Prezența substanțelor interferente de mai sus în proba de ser nu modifică rezultatul testului.

2 probe pozitive cu factor reumatoid (RF) (200 UI/ml) au fost îmbogățite cu Vedolizumab.

Nivel ridicat – 32,4 µg/ml
Nivel scăzut – 7,2 µg/ml
Negativ – < 1,1 µg/ml

Prezența RF în serul testat nu modifică rezultatul testului.

15. REACȚII ÎNCRUCIȘATE

Au fost testate 10 probe, care nu conțin Vedolizumab, dar care conțin IFX (10,8 µg/ml) – 5 probe și ADL (27,0 µg/ml) – 5 probe.

Nu au fost detectate reacții încrucișate.

16. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment au fost analizate 170 de probe cu kitul Diesse și cu un kit Promonitor VDZ ELISA.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

		Referință		
		+	-	Total
Diesse	+	41	0	41
	-	0	129	129
	Total	41	129	170

Procent de concordanță pozitivă (~ sensibilitate de diagnostic): 100,0% CI_{95%}: 91,4-99,9

Procent de concordanță negativă: (~ specificitate de diagnostic):

100,0% CI_{95%}: 97,1-100,0

Valoare predictivă pozitivă (PPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

Valoarea predictivă negativă (NPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

Gradul de concordanță între cele două metode este optim cu o valoare a K (coeficientul lui Cohen) de 1.0.

Din cele 170 de probe, la 41 de probe pozitive a fost testată corelația dintre kitul Dicese și un alt kit disponibil în comerț.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Corelare	r	IC 95%
Pearson	0,95	0,91-0,97
Spearman	0,97	0,94-0,98

Corelația dintre cele două metode este foarte mare.

17. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între ședințe	
	Medie (μg/ml)	CV%	Medie (μg/ml)	CV%
1	27,1	7,2	24,3	9,1
2	10,7	14,4	9,7	10,4
3	6,9	10,1	7,2	10,1
4	1,5	9,3	1,9	12,1
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (μg/ml)	CV%	Medie (μg/ml)	CV%
1	34,5	9,2	25,6	14,3
2	13,6	10,6	9,4	10,9

3	8,3	12,5	6,8	15,0
4	2,0	10,5	1,9	14,7
5	<1,1	-	<1,1	-
6	<1,1	-	<1,1	-

18. LINEARITATE

Linearitatea testului a fost evaluată folosind 3 probe cu concentrații cunoscute de Vedolizumab. Au fost efectuate 8 diluții în serie pentru fiecare probă, care au demonstrat linearitatea metodei de la 1,6 la 59,3 μg/ml.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Gisbert JP, Chaparro M. Predictors of Primary Response to Biologic Treatment [Anti-TNF, Vedolizumab, and Ustekinumab] in Patients With Inflammatory Bowel Disease: From Basic Science to Clinical Practice. J Crohns Colitis. 2020 Jun 19;14(5):694-709.
2. Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
3. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Hanauer S, Colombel JF, Sands BE, Lukas M, Fedorak RN, Lee S, Bressler B, Fox I, Rosario M, Sankoh S, Xu J, Stephens K, Milch C, Parikh A; GEMINI 2 Study Group. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. N Engl J Med. 22 Aug 2013;369(8):711-21.
4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, Parikh A, Bargfrede M, Wyant T, Fedyk E, Fox I. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. Clin Pharmacokinet. 2017 Nov;56(11):1287-1301.

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