

CHORUS Promonitor Adalimumab

REF 86702



DIESSE

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

	Capitolo Section Kapitola Kapitel Capítulo Chapitre Capítulo Capitol
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Změny zavedené v aktuální revizi In der aktuellen Revision eingeführte Änderungen Cambios introducidos en la revisión actual Changements introduits dans la révision actuelle Mudanças introduzidas na revisão atual Modificări introduse în actuala revizuire	6-17



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Promonitor Adalimumab

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

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

CHORUS Promonitor Adalimumab è un kit di immunodosaggio per la determinazione quantitativa automatizzata di Adalimumab (ADL) nel siero umano con dispositivo monouso applicato allo strumento CHORUS TRIO.

Il prodotto, utilizzato in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio, è utile come ausilio nella gestione dei pazienti trattati con Adalimumab (ADL), come i pazienti con patologie reumatiche e gastrointestinali.

Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

2. INTRODUZIONE

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

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

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

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

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

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

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

4. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

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

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

Informazioni su salute e sicurezza

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

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

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

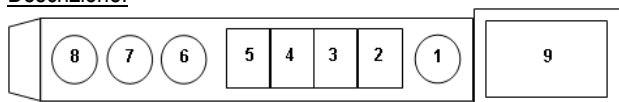
1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 2) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso; non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento CHORUS TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'uso e il Manuale utente dello strumento.
L'utilizzo del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata del software. Assicurarsi che il software installato sullo strumento sia una versione (Rel.) corrispondente o successiva a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito DIESSE (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-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 un anticorpo monoclonale umano anti-ADL

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con un anticorpo monoclonale umano anti-ADL

Posizione 5: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0,3 M

Posizione 4: CONIUGATO

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

Posizione 3: TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

Posizione 2: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina stabilizzata in tampone citrato

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

in cui trasferire il campione.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE 1 x 0.650 ml

Contenuto: siero umano contenente ADL e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: siero umano contenente ADL e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

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

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

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8 °C
CALIBRATORE	fino alla scadenza a 2/8 °C
CONTROLLO POSITIVO	fino alla scadenza a 2/8 °C

7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

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

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

Evitare l'uso di congelatori auto-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 Adalimumab (REF. 86702) 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	50 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 ≥ 0.30 µg/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.30 µg/ml

11. LIMITAZIONI

1. Dovrebbero essere misurati i livelli minimi di ADL. Il momento ottimale per il prelievo del campione è immediatamente prima dell'iniezione di ADL.
2. Questo test misura l'ADL libero. Sebbene possa rilevare l'ADL legato al TNF- α , questo contributo è trascurabile, poiché la concentrazione di TNF- α circolante è nell'ordine di picogrammi per millilitro.
3. Questo test non misura l'ADL legato agli anticorpi anti-ADL (immunocomplessi) che potrebbero essere stati sviluppati dal paziente a causa dell'immunogenicità del farmaco.
4. Questo test non è inteso per l'uso come ausilio nella diagnosi, né come test diagnostico di accompagnamento. Il medico deve interpretare i risultati del test nel contesto di altre variabili come la finestra di campionamento, la metodologia, gli anticorpi anti-ADL e altri risultati clinici come l'attività della malattia.
5. Sebbene sia stato confermato che il dosaggio funziona con il plasma, non sono state stabilite le caratteristiche prestazionali del dosaggio su matrici diverse dal siero.
6. Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale di laboratorio professionale che abbia ricevuto una formazione adeguata.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 0.30-55.0 µg/ml

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

13. RANGE DI RIFERIMENTO

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

14. SPECIFICITÀ ANALITICA

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

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

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

2 campioni Fattore Reumatoide positivi (200 IU/ml) sono stati addizionati con Adalimumab:

Livello alto - 19.2 µg/ml
Livello medio - 6.1 µg/ml
Livello basso - 0.3 µg/ml

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

15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 15 campioni, non contenenti ADL ma contenenti varie concentrazioni di IFX - 5 campioni (11.2 - 48.4

µg/ml). ETN – 5 campioni (10.0 µg/ml) e HAMA – 5 campioni (38 – 86 ng/ml).

Non sono state rilevate reazioni crociate.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

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

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

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

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):
100.0% IC_{95%}: 92.4-99.9

Percentuale di concordanza negativa (~ specificità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 96.5-100.0

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

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

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

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

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

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

La correlazione tra i due metodi è molto elevata.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	16.1	7.0	16.7	6.5
2	9.1	6.3	8.7	3.6
3	3.9	5.4	3.9	7.4
4	0.47	12.8	0.47	10.6
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	19.7	3.8	17.5	13.9
2	9.1	10.9	8.9	13.4
3	5.1	6.7	4.0	12.8
4	0.50	6.0	0.46	13.0
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

18. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 3 campioni con concentrazioni note di Adalimumab. Sono state effettuate

almeno 8 diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 0.34 µg/ml a 55.0 µg/ml.

19. ACCURATEZZA

L'accuratezza del test è stata valutata misurando il 1° Standard Internazionale per Adalimumab (codice NIBSC: 16/236).

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

Concentrazione di Adalimumab attesa (µg/ml)	Concentrazione di Adalimumab trovata (µg/ml)	Recupero % (Criterio di accettazione: 85-115)
25.0	25.4	102
12.5	11.1	89
6.3	6.5	103
3.1	3.5	113
1.6	1.8	113
0.78	0.85	109
0.39	0.44	113

20. BIOSIMILARI

Uno studio di valutazione del bias è stato effettuato per testare la capacità del dispositivo CHORUS Promonitor Adalimumab di quantificare alcuni farmaci biosimilari disponibili in commercio, rispetto al farmaco di riferimento (Humira®).

I dati ottenuti sono riassunti nella seguente tabella:

CHORUS Promonitor ADALIMUMAB			
	Livello 1	Livello 2	Livello 3
Humira® - Amgevita®			
Concentrazione Humira® (µg/mL)	35.4	18.6	9.8
Bias Amgevita®-Humira®	-2.2	-1.9	-1.3
Humira® - Imraldi			
Concentrazione Humira® (µg/mL)	33.7	17.8	9.3
Bias Imraldi- Humira®	-0.7	0.7	-0.9

21. BIBLIOGRAFIA

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



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Promonitor Adalimumab

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

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

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

It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

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

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

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

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

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

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

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

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

Analytical Precautions

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

Use the devices within 60 min.

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

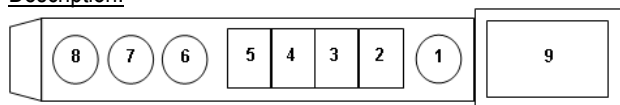
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the CHORUS TRIO instrument; the Instructions for Use must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

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with an anti-ADL human monoclonal antibody

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

HRP-labelled anti-ADL antibody and buffer containing preservative

Position 3: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 2: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine stabilized in citrate buffer

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

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

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

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 1.100 ml
Contents: Human serum containing ADL, 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	up to the expiry date at 2/8°C
POSITIVE CONTROL	up to the expiry date at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

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

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

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be 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 Adalimumab (REF. 86702) 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	50 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 ≥ 0.30 µg/ml

NEGATIVE: when the result is < 0.30 µg/ml

11. LIMITATIONS

1. Trough ADL levels should be measured. The optimum sample collection time is immediately before the ADL injection.
2. This assay measures free ADL. Although it could detect TNF α -bound ADL, this contribution is neglectable, since the concentration of circulating TNF α is in the range of picograms per milliliter.
3. This assay does not measure ADL bound to anti-ADL antibodies (immunocomplexes) which may have been developed by the patient due to drug immunogenicity.
4. This assay is not intended for use as an aid in diagnosis, neither as a companion diagnostic test. The clinician should interpret test results in the context of other variables like sampling window, methodology, anti-ADL antibodies and other clinical findings like disease activity.

5. Although the assay has been confirmed to work with plasma, the assay performance characteristics have not been established for matrices other than serum.
6. This product should only be used by appropriately trained laboratory professional personnel.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 0.30-55.0 µg/ml

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

13. REFERENCE RANGE

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

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

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

Bilirubin (4.5 mg/dl - 45 mg/dl)

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

Hemoglobin (2.5 mg/ml - 10 mg/ml)

The presence in the serum sample of the interfering substances listed above does not affect the test result.

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

High level - 19.2 µg/ml

Medium level - 6.1 µg/ml

Low level - 0.3 µg/ml

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

15. CROSS-REACTIONS

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

No cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

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

Data are summarized in the following table:

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

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI_{95%}: 92.4-99.9

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 96.5-100.0

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

Data are summarized in the following table:

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

The correlation between the two methods is very high.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	16.1	7.0	16.7	6.5
2	9.1	6.3	8.7	3.6
3	3.9	5.4	3.9	7.4
4	0.47	12.8	0.47	10.6
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	19.7	3.8	17.5	13.9
2	9.1	10.9	8.9	13.4
3	5.1	6.7	4.0	12.8
4	0.50	6.0	0.46	13.0
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

18. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 3 samples with known concentration of Adalimumab. For each sample at least 8 serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 0.34-55.0 µg/ml.

19. ACCURACY

The accuracy of the test was assessed testing the 1st International Standard for Adalimumab (NIBSC code: 16/236).

The data are summarized in the following table:

Expected Adalimumab concentration (µg/ml)	Found Adalimumab concentration (µg/ml)	Recovery % (Acceptance criteria: 85-115)
25.0	25.4	102
12.5	11.1	89
6.3	6.5	103

3.1	3.5	113
1.6	1.8	113
0.78	0.85	109
0.39	0.44	113

20. BIOSIMILARS

A bias evaluation study was performed to test the ability of the CHORUS Promonitor Adalimumab device to quantify some commercially available biosimilar drugs, compared to the reference drug (Humira®).

The data obtained are summarized in the following table:

	CHORUS Promonitor ADALIMUMAB		
	Level 1	Level 2	Level 3
	Humira® - Amgevita®		
Concentration Humira® (µg/mL)	35.4	18.6	9.8
Bias Amgevita®-Humira®	-2.2	-1.9	-1.3
	Humira® - Imraldi		
	Level 1	Level 2	Level 3
	Humira® - Imraldi		
Concentration Humira® (µg/mL)	33.7	17.8	9.3
Bias Imraldi- Humira®	-0.7	0.7	-0.9

21. BIBLIOGRAPHY

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



POKyny PRO Použití

CHORUS Promonitor Adalimumab

Pro kvantitativní stanovení adalimumabu (ADL) v lidském séru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. Použití

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

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

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

2. Úvod

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

3. Princip metody

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

Test je založen na „sendvičové“ metodě ELISA.

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

ADL je schopen se po inkubaci se vzorkem vázat na předem imobilizovaný anti-ADL. Po promytí, aby se odstranil nenavázaný vzorek, se přidá protilátka anti-ADL značená HRP (konjugát). Druhá inkubační fáze umožňuje konjugátu se vázat

na ADL, který ulpěl na mikrotitračních jamkách. Monoklonální protilátky proti ADL nekompetují s TNF- α o vazbu s ADL. Po promytí, aby se odstranil přebytečný nenavázaný konjugát, se přidá substrát pro peroxidázu. Enzymatická reakce se zastaví přidáním zastavovacího roztoku, který roztok zbarví do žluta. Barva, která se vytvoří, je úměrná množství léku přítomnému ve vzorku pacienta.

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

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

4. VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace o zdraví a bezpečnosti

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

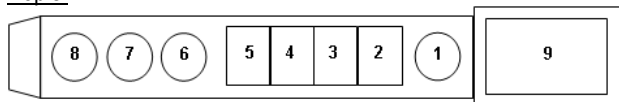
- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 2) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagensů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
- 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/>)
- Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz uživatelská příručka).
- Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
- Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním.
- Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka CHORUS TRIO).
- Pokud používáte zařízení CHORUS Autosampler (REF 81210), řiďte se příslušnou uživatelskou příručkou.
- Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
- Použití silně hemolyzovaných, lipemických, ikterických vzorků séra, které není plně koagulováno, nebo vzorků vykazujících mikrobiální kontaminaci může být zdrojem chyb.
- Nepoužívejte nástroj po uplynutí data spotřeby.
- Zkontrolujte, zda je zařízení připojeno k Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 balení po 6 nástrojích

Popis:



Pozice 9: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 8: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervant

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-ADL

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-ADL

Pozice 5: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 4: KONJUGÁT

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

Pozice 3: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervant

Pozice 2: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

Použití: nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě,

poté jej otevřete a vyjměte potřebné nástroje; ostatní vraťte do sáčku se siliciovým gelem, vypustěte 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 ADL a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA 1 x 1,100 ml

Obsah: lidské sérum obsahující ADL a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. ZPŮSOB SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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	až do expirace při teplotě 2-8°C
POZITIVNÍ KONTROLA	až do expirace při teplotě 2-8°C

7. ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

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

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

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

Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmrazený 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 Adalimumab (REF. 86702) lze provádět současně POUZE s ostatními testy CHORUS Promonitor.

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

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

Při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibrátor.

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

9. VALIDACE TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

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

Test na zkoumaném séru lze interpretovat takto:

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

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

11. OMEZENÍ

1. Měly by být měřeny minimální úrovně ADL. Optimální doba odběru vzorků je bezprostředně před injekcí ADL.
2. Tento test měří volný ADL. I když může detekovat ADL vázaný na TNF- α , je tento přínos zanedbatelný, protože koncentrace cirkulujícího TNF- α se pohybuje v řádu pikogramů na mililitr.
3. Tento test neměří ADL vázaný na protilátky anti-ADL (imunokomplexy), které by se mohly u pacienta vytvořit v důsledku imunogenicity léku.
4. Tento test není určen k použití jako pomůcka při diagnostice ani jako doprovodný diagnostický test. Lékař musí výsledky testu interpretovat v kontextu dalších proměnných, jako je odběrové vzorkovací okno,

metodika, protilátky anti-ADL a další klinické výsledky, jako aktivita onemocnění.

5. I když bylo potvrzeno, že dávkování funguje s plazmou, nebyly stanoveny výkonnostní charakteristiky dávkování na jiných matricích než sérum.
6. Tento produkt smí používat pouze odborný laboratorní personál, který prošel příslušným školením.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 0,30-55,0 µg/ml

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

13. REFERENČNÍ ROZSAH

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

14. ANALYTICKÁ SPECIFITA

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

Bilirubin (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)

Triglyceridy (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Hemoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

2 pozitivní vzorky revmatoidního faktoru (200 IU/ml) byly doplněny adalimumabem:

Vysoká hladina – 19,2 µg/ml

Střední hladina – 6,1 µg/ml

Nízká hladina – 0,3 µg/ml

Přítomnost RF ve vzorku séra neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

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

Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

16. SROVNÁNÍ METOD

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

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

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

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

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

Procento negativní konkordance (~ diagnostická specifita):

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

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

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

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

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

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

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

Korelace mezi těmito dvěma metodami je velmi vysoká.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

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

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	19,7	3,8	17,5	13,9
2	9,1	10,9	8,9	13,4
3	5,1	6,7	4,0	12,8
4	0,50	6,0	0,46	13,0
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 3 vzorků se známými koncentracemi protilátek adalimumabu. Pro každý vzorek bylo provedeno alespoň 8 sériových ředění, která prokázala linearitu metody od 0,34 µg/ml do 55,0 µg/ml.

19. PŘESNOST

Přesnost testu byla hodnocena měřením 1. mezinárodního standardu pro adalimumab (kód NIBSC: 16/236).

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

Očekávaná koncentrace adalimumabu (µg/ml)	Zjištěná koncentrace adalimumabu (µg/ml)	Výtěžnost % (Kritérium přijatelnosti: 85-115)
25,0	25,4	102
12,5	11,1	89
6,3	6,5	103
3,1	3,5	113
1,6	1,8	113
0,78	0,85	109
0,39	0,44	113

20. BIOSIMILARS

Byla provedena studie hodnocení bias s cílem otestovat schopnost nástroje CHORUS Promonitor Adalimumab kvantifikovat některé komerčně dostupné biosimilární léky ve srovnání s referenčním lékem (Humira®).

Získaná data jsou shrnuta v následující tabulce:

	CHORUS Promonitor ADALIMUMAB		
	Hladina 1	Hladina 2	Hladina 3
	Humira® - Amgevita®		
Koncentrace Humira® (µg/mL)	35.4	18.6	9.8
Bias Amgevita®-Humira®	-2.2	-1.9	-1.3
	Humira® - Imraldi		
	Hladina 1	Hladina 2	Hladina 3
	Humira® - Imraldi		
Koncentrace Humira® (µg/mL)	33.7	17.8	9.3
Bias Imraldi- Humira®	-0.7	0.7	-0.9

21. BIBLIOGRAFIE

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



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Promonitor Adalimumab

Zur quantitativen Bestimmung von Adalimumab (ADL) in Humanserum

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

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

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

Es darf nur von professionellen Labortechnikern verwendet werden.

2. EINLEITUNG

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

3. TESTPRINZIP

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

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

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

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

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

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

4. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT

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

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

Gesundheits- und Sicherheitsinformationen

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
2. Beim Handhaben der Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz tragen.
3. Nach dem Einsetzen der Testmodule in den CHORUS TRIO Laboranalysator sorgfältig die Hände waschen.
4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der Reagenzien des Testsatzes beachten Sie bitte das 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.

- Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt werden. Die verschmutzte Fläche muss vor dem Fortsetzen der Arbeit zum Beispiel mit 1 %igem Natriumhypochlorit dekontaminiert werden. Wenn Säure in der verschütteten Flüssigkeit enthalten ist, wischen Sie den verschmutzten Bereich ab, bevor Sie Natriumhypochlorit verwenden. Alle für die Dekontamination von verschüttetem Material verwendeten Hilfsmittel müssen einschließlich der Handschuhe als potentiell infektiöser Abfall entsorgt werden. Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Warnhinweise zur Analyse

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

- Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 2) aussortieren.
- Beim Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung am Boden achten.
- 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.
- 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 Diesse-Website veröffentlichte oder eine höhere Version (Rel.) handelt

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

- Kontrollieren, ob der CHORUS TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe Gebrauchsanleitung).
- Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
- Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
- Eventuelle unlesbare Strichcodes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung des CHORUS TRIO).
- Wenn das Gerät CHORUS Autosampler (REF. 81210) verwendet wird, ist dessen eigene Gebrauchsanleitung zu befolgen.
- Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
- Die Verwendung von stark hämolytierten, lipämischen, ikterischen Proben, von unvollständig koagulierte Serum

oder Proben mit mikrobieller Kontamination kann eine Fehlerquelle darstellen.

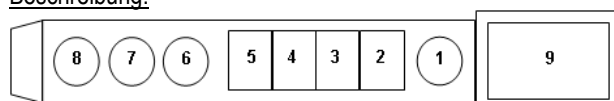
- Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
- Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Waschpuffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.**

5. BESTANDTEILE DES TESTSATZES UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Der Testsatz reicht für 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit einem humanen monoklonalen Anti-ADL-Antikörper

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit einem humanen monoklonalen Anti-ADL-Antikörper

Position 5: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 4: KONJUGAT

Inhalt: HRP-markierter Anti-ADL-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 ADL und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 1.100 ml

Inhalt: Humanserum mit ADL und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY **REF.** 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF.** 83609
- DESINFektionsLÖSUNG **REF.** 83604
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/RROBENVERDÜNNUNGSMITTE L **REF.** 83607

- CHORUS TRIO Laboranalysator
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Übliches Laborglas: Zylinder, Reagenzgläser, usw.
- Mikropipetten zur genauen Entnahme von Volumina zwischen 50 und 200 µl
- Einweghandschuhe
- Natriumhypochlorit-Lösung (5 %)
- Behälter zum Sammeln potentiell infektiöser Materialien

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen eine begrenzte Stabilität:

TESTMODULE	8 Wochen bei 2–8 °C
KALIBRATOR	bis zum Verfallsdatum bei 2–8 °C
POSITIVE KONTROLLE	bis zum Verfallsdatum bei 2–8 °C

7. SAMMLUNG UND LAGERUNG VON PROBEN

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

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

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

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

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

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

8. VORGEHENSWEISE

Der CHORUS Promonitor Adalimumab-Test (REF. 86702) kann gleichzeitig NUR mit den anderen CHORUS Promonitor-Tests durchgeführt werden.

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

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

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 interpretiert werden:

POSITIV: wenn das Ergebnis $\geq 0,30$ µg/ml ist

NEGATIV: wenn das Ergebnis $< 0,30$ µg/ml ist

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

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

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 0,30–55,0 µg/ml

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

13. REFERENZBEREICH

In der Normalbevölkerung sind die Erwartungswerte, ermittelt durch die Untersuchung von 120 Seren gesunder Spender, mit Werten <0,30 µg/ml negativ.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

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

Bilirubin (4,5 mg/dl–45 mg/dl)
Triglyceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hämoglobin (2,5 mg/ml–10 mg/ml)

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

Zu 2 positiven Rheumafaktor-Proben (200 IE/ml) wurde Adalimumab hinzugefügt:

Hoher Spiegel – 19,2 µg/ml
Mittlerer Spiegel – 6,1 µg/ml
Niedriger Spiegel – 0,3 µg/ml

Das Vorhandensein von RF in der Serumprobe hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 15 Proben getestet, die kein ADL, jedoch verschiedene Konzentrationen von IFX enthielten – 5 Proben (11,2–48,4 µg/ml). ETN – 5 Proben (10,0 µg/ml) und HAMA – 5 Proben (38–86 ng/ml).

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHSTUDIEN

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

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

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

Positive Übereinstimmungsrate (~ diagnostische Sensitivität):

100,0 % KI₉₅ %: 92,4–99,9

Negative Übereinstimmungsrate: (~ diagnostische Spezifität):

100,0 % KI₉₅ %: 96,5–100,0

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

Negativer Vorhersagewert (NPV): 100,0 % KI₉₅ %: 100,0–100,0

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

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

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Korrelation	r	95 % KI
Pearson	0,97	0,94–0,98
Spearman	0,97	0,95–0,99

Die Korrelation zwischen den beiden Methoden ist sehr hoch.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	16,1	7,0	16,7	6,5
2	9,1	6,3	8,7	3,6
3	3,9	5,4	3,9	7,4
4	0,47	12,8	0,47	10,6
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	19,7	3,8	17,5	13,9
2	9,1	10,9	8,9	13,4
3	5,1	6,7	4,0	12,8
4	0,50	6,0	0,46	13,0
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 3 Proben mit bekannten Konzentrationen von Adalimumab bewertet. Für jede Probe wurden mindestens 8 Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 0,34 µg/ml bis 55,0 µg/ml nachgewiesen wurde.

19. GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit des Tests wurde durch Messung des 1. internationalen Standards für Adalimumab (NIBSC-Code: 16/236) bewertet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Erwartete Adalimumab-Konzentration (µg/ml)	Gemessene Adalimumab-Konzentration (µg/ml)	Wiederfindungsrate % (Akzeptanzkriterium: 85–115)
25,0	25,4	102
12,5	11,1	89
6,3	6,5	103
3,1	3,5	113
1,6	1,8	113
0,78	0,85	109
0,39	0,44	113

20. BIOSIMILARS

Es wurde eine Studie zur Bewertung der Verzerrung (Bias) durchgeführt, um die Fähigkeit des CHORUS Promonitor Adalimumab-Testmoduls zur Quantifizierung einiger im Handel erhältlicher Biosimilar-Medikamente im Vergleich zum Referenzmedikament (Humira®) zu testen.

Die erhaltenen Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

	CHORUS Promonitor ADALIMUMAB		
	Spiegel 1	Spiegel 2	Spiegel 3
	Humira® - Amgevita®		
Humira®-Konzentration (µg/ml)	35.4	18.6	9.8
Bias Amgevita®-Humira®	-2.2	-1.9	-1.3
	Humira® - Imraldi		
Humira®-Konzentration (µg/ml)	33.7	17.8	9.3
Bias Imraldi- Humira®	-0.7	0.7	-0.9

21. LITERATUR

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



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Promonitor Adalimumab

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

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

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

2. INTRODUCCIÓN

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

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS Promonitor Adalimumab está listo para su uso para la determinación de Adalimumab (ADL) en suero humano, en el equipo CHORUS TRIO. La prueba se basa en un método ELISA de tipo sándwich.

Los pocillos de las microplacas están recubiertos previamente con un anticuerpo monoclonal humano anti-ADL. El calibrador, el control positivo y las muestras se añaden a un dispositivo separado.

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

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

Los resultados se expresan en $\mu\text{g/ml}$ calculados con referencia al 1er Estándar Internacional para Adalimumab (código NIBSC: 16/236).

4. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

SOLO PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

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

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

Información sobre salud y seguridad

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

contiene un ácido, secar el área contaminada antes de usar el hipoclorito de sodio. Todos los materiales empleados para descontaminar la zona en la que se hayan producido derrames, incluidos guantes, deberán desecharse como si fuesen residuos potencialmente infecciosos. No utilizar el autoclave con materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias relacionadas con el análisis

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

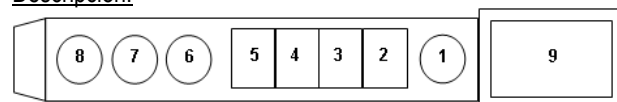
1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de algún reactivo o la presencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción cuando se inspeccionan visualmente.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo CHORUS TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con CHORUS TRIO con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión (Rel.) del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que se puede consultar en el sitio web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Comprobar que el equipo CHORUS TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo correctamente.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario 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 un anticuerpo monoclonal humano anti-ADL

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con un anticuerpo monoclonal humano anti-ADL

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: solución de ácido sulfúrico 0,3 M

Posición 4: CONJUGADO

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

Posición 3: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

Posición 2: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina estabilizada en tampón citrato

Posición 1: POCILLO VACÍO

donde se debe transferir la muestra.

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

CALIBRATOR CALIBRADOR **1 x 0,650 ml**
Contenido: suero humano que contiene ADL y conservante.
Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO **1 x 1,100 ml**
Contenido: suero humano que contiene ADL y conservante.
Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

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

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8 °C. Si la temperatura de conservación es incorrecta, habrá que repetir la calibración y verificar que el resultado es

correcto mediante el suero de control (ver el capítulo 9: Validación de la prueba).

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

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

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	hasta la fecha de caducidad a 2/8°C
CONTROL POSITIVO	hasta la fecha de caducidad a 2/8°C

7. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

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

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

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

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

Se recomienda encarecidamente evitar cualquier procesamiento agresivo de las muestras.

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

8. PROCEDIMIENTO

La prueba CHORUS Promonitor Adalimumab (REF. 86702) 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	50 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 $\geq 0,30$ µg/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es $< 0,30$ µg/ml

11. LIMITACIONES

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 0,30-55,0 µg/ml

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

13. RANGO DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante el análisis de 120 sueros de donantes sanos, son negativos con valores $< 0,30$ µg/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

Bilirrubina (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglicéridos (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

Se añadió Adalimumab a 2 muestras Factor Reumatoides positivas (200 UI/ml):

Nivel alto – 19,2 µg/ml

Nivel medio – 6,1 µg/ml

Nivel bajo – 0,3 µg/ml

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

15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 15 muestras que no contenían ADL, pero que contenían distintas concentraciones de IFX – 5 muestras (11,2 - 48,4 µg/ml). ETN – 5 muestras (10,0 µg/ml) y HAMA – 5 muestras (38 – 86 ng/ml).

No se encontraron reacciones cruzadas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

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

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

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

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100,0 % IC₉₅ %: 92,4-99,9

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

100,0 % IC₉₅ %: 96,5-100,0

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

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

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

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

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

Correlación	r	IC del 95 %
Pearson	0,97	0,94-0,98
Spearman	0,97	0,95-0,99

La correlación entre los dos métodos es muy alta.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intra-ensayo		Entre ensayos	
	Media (µg/ml)	CV %	Media (µg/ml)	CV %
1	16,1	7,0	16,7	6,5
2	9,1	6,3	8,7	3,6
3	3,9	5,4	3,9	7,4
4	0,47	12,8	0,47	10,6
5	0,30	-	0,30	-

6	0,30	-	0,30	-
---	------	---	------	---

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (µg/ml)	CV %	Media (µg/ml)	CV %
1	19,7	3,8	17,5	13,9
2	9,1	10,9	8,9	13,4
3	5,1	6,7	4,0	12,8
4	0,50	6,0	0,46	13,0
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 3 muestras con concentraciones conocidas de Adalimumab. Se realizaron al menos 8 diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 0,34 µg/ml a 55,0 µg/ml.

19. EXACTITUD

La precisión de la prueba se evaluó midiendo el primer Estándar Internacional para Adalimumab (código NIBSC: 16/236).

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

Concentración esperada de Adalimumab (µg/ml)	Concentración encontrada de Adalimumab (µg/ml)	Recuperación % (Criterio de aceptación: 85-115)
25,0	25,4	102
12,5	11,1	89
6,3	6,5	103
3,1	3,5	113
1,6	1,8	113
0,78	0,85	109
0,39	0,44	113

20. BIOSIMILARES

Se realizó un estudio de evaluación del sesgo para probar la capacidad del dispositivo CHORUS Promonitor Adalimumab para cuantificar algunos medicamentos biosimilares disponibles en el comercio, en comparación con el medicamento de referencia (Humira®).

Los datos obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

CHORUS Promonitor ADALIMUMAB			
	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Humira® - Amgevita®			
Concentración de Humira® (µg/ml)	35.4	18.6	9.8
Sesgo Amgevita®-Humira®	-2.2	-1.9	-1.3
Humira® - Imraldi			
Concentración de Humira® (µg/ml)	33.7	17.8	9.3
Sesgo Imraldi-Humira®	-0.7	0.7	-0.9

21. BIBLIOGRAFÍA

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



MODE D'EMPLOI

CHORUS Promonitor Adalimumab

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

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

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

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

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

2. INTRODUCTION

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

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

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

Le test est basé sur une méthode ELISA de type « sandwich ». Les puits des microplaques sont pré-revêtus d'un anticorps monoclonal humain anti-ADL. Le calibre, le contrôle positif et les échantillons sont ajoutés à un dispositif séparé.

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

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

4. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*

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

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

Informations sur la santé et la sécurité

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

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

Précautions analytiques

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

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

L'utilisation du kit n'est possible qu'avec CHORUS TRIO avec une version mise à jour du logiciel. S'assurer que le logiciel installé sur l'analyseur est une version (Rel.) correspondant ou postérieure à celle indiquée dans le tableau publié sur le site Diesse

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

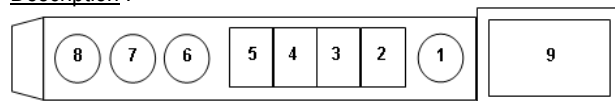
5. S'assurer que l'analyseur CHORUS TRIO est réglé correctement (voir le Manuel Utilisateur).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Tout code à barres défectueux peut être saisi manuellement dans l'analyseur (voir le manuel d'utilisation du CHORUS TRIO).
9. En cas d'utilisation de l'analyseur CHORUS Autosampler (RÉF 81210), se reporter au manuel d'utilisation correspondant.
10. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
11. L'utilisation d'échantillons fortement hémolysés, lipémiques et icériques, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une contamination microbienne peut constituer une source d'erreur.
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
13. **S'assurer que l'analyseur est connecté au Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004).**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 conditionnements de 6 dispositifs chacun

Description :



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

Position 8 : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

Position 7 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Recouvert d'un anticorps monoclonal humain anti-ADL

Position 6 : PUIITS DE LA MICROPLAQUE

Recouvert d'un anticorps monoclonal humain anti-ADL

Position 5 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 4 : CONJUGUÉ

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

Position 3 : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

Position 2 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine stabilisé dans un tampon citrate

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'échantillon doit être transféré.

Utilisation : équilibrer un sachet à température ambiante,

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

CALIBRATOR CALIBREUR

1 x 0,650 ml

Contenu : sérum humain contenant de l'ADL et un conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 1,100 ml

Contenu : sérum humain contenant de l'ADL et un conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

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

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. En cas de température de stockage incorrecte, il est nécessaire de répéter la calibration et de vérifier l'exactitude du résultat à l'aide du sérum de contrôle (voir chapitre 9 : Validation du test).

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

Les réactifs offrent une stabilité limitée après ouverture :

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBREUR	jusqu'à péremption à 2/8 °C
CONTRÔLE POSITIF	jusqu'à péremption à 2/8 °C

7. COLLECTE ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

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

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

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

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

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

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

8. PROCÉDURE

Le test CHORUS Promonitor Adalimumab (RÉF. 86702) peut UNIQUEMENT être exécuté simultanément à d'autres tests CHORUS Promonitor.

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

ÉCHANTILLON	50 µl/dispositif
CALIBREUR	130 µl/dispositif
CONTRÔLE POSITIF	130 µl/dispositif

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

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

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser le contrôle positif pour vérifier l'exactitude des résultats obtenus, en le traitant comme indiqué dans le Manuel

d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le contrôle positif présente une valeur dépassant la limite d'acceptabilité, répéter le calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

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

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

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

Le dosage du sérum analysé peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est $\geq 0,30$ µg/ml
NÉGATIF : lorsque le résultat est $< 0,30$ µg/ml

11. LIMITES

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

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 0,30-55,0 µg/ml

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

13. PLAGE DE RÉFÉRENCE

Dans la population normale, les valeurs attendues, déterminées en examinant 120 sérums de donneurs sains, sont négatives, avec des valeurs de $< 0,30$ µg/ml.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

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

Bilirubine (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
 Triglycérides (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
 Hémoglobine (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

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

2 échantillons facteur rhumatoïde positifs (200 UI/mL) ont été additionnés d'Adalimumab :

Niveau élevé - 19,2 µg/ml
 Niveau moyen - 6,1 µg/ml
 Niveau bas - 0,3 µg/ml

La présence de RF dans l'échantillon de sérum ne modifie pas le résultat du test.

15. RÉACTIONS CROISÉES

15 échantillons ont été testés, ne contenant pas d'ADL mais contenant diverses concentrations d'IFX - 5 échantillons (11,2 - 48,4 µg/ml). ETN - 5 échantillons (10,0 µg/ml) et HAMA - 5 échantillons (38 - 86 ng/ml).

Aucune réaction croisée n'a été observée.

16. ÉTUDES COMPARATIVES

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

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

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) :

100,0 % IC 95 % : 92,4-99,9

Taux de concordance négative (~ spécificité diagnostique) :

100,0 % IC 95 % : 96,5-100,0

Valeur prédictive positive (PPV) : 100,0 % IC 95 % : 100,0 à 100,0

Valeur prédictive négative (NPV) : 100,0 % IC 95 % : 100,0 à 100,0

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

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

Les données figurent dans le tableau suivant :

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

La corrélation entre les deux méthodes est très élevée.

17. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Intra-séance		Entre les séances	
	Moyenne (µg/ml)	CV %	Moyenne (µg/ml)	CV %
1	16,1	7,0	16,7	6,5
2	9,1	6,3	8,7	3,6
3	3,9	5,4	3,9	7,4
4	0,47	12,8	0,47	10,6
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Échantillon	Entre les lots		Entre les analyseurs	
	Moyenne (µg/ml)	CV %	Moyenne (µg/ml)	CV %
1	19,7	3,8	17,5	13,9
2	9,1	10,9	8,9	13,4
3	5,1	6,7	4,0	12,8
4	0,50	6,0	0,46	13,0
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée en utilisant 3 échantillons avec des concentrations connues d'Adalimumab. Au moins 8 dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, ce qui a démontré la linéarité de la méthode de 0,34 µg/ml à 55,0 µg/ml.

19. PRÉCISION

La précision du test a été évaluée en mesurant le 1^{er} standard international pour l'Adalimumab (code NIBSC : 16/236).

Les données figurent dans le tableau suivant :

Concentration d'Adalimumab attendue (µg/mL)	Concentration d'Adalimumab relevée (µg/mL)	Récupération % (Critère d'acceptation : 85-115)
25,0	25,4	102
12,5	11,1	89
6,3	6,5	103
3,1	3,5	113
1,6	1,8	113
0,78	0,85	109
0,39	0,44	113

20. BIOSIMILAIRES

Une étude d'évaluation du biais a été réalisée pour tester la capacité du dispositif CHORUS Promonitor Adalimumab à quantifier certains médicaments biosimilaires disponibles dans le commerce, par rapport au médicament de référence (Humira®).

Les données obtenues figurent dans le tableau suivant :

	CHORUS Promonitor ADALIMUMAB		
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
	Humira® - Amgevita®		
Concentration Humira® (µg/mL)	35,4	18,6	9,8
Bias Amgevita®-Humira®	-2,2	-1,9	-1,3
	Humira® - Imraldi		
	Concentration Humira® (µg/mL)	33,7	17,8
			9,3

Bias Imraldi- Humira®	-0,7	0,7	-0,9
-----------------------	------	-----	------

21. BIBLIOGRAPHIE

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



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor Adalimumab

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

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

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

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

Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

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

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

O teste é baseado num método ELISA em sanduíche.

Os poços das microplacas são pré-revestidos com um anticorpo monoclonal humano anti-ADL. Calibrador, controlo

positivo e amostras são adicionados a um dispositivo separado.

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

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

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

4. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados e responderam negativamente à presença de HbsAg e DE anticorpos contra o HIV-1, HIV-2 e HCV. Dado que nenhum teste de diagnóstico pode oferecer garantia total de ausência de agentes infecciosos, qualquer material de origem humana deve ser considerado potencialmente infetado. 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 infetados 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 infetado 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. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento CHORUS TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

O kit só pode ser utilizado com CHORUS TRIO com uma versão atualizada do software. Assegurar que o software instalado no instrumento é uma versão (Rel.) correspondente ou posterior à apresentada na tabela publicada no website da Diesse

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

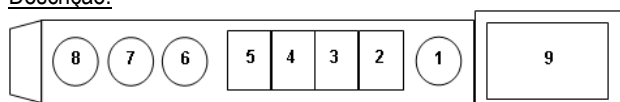
5. Certificar-se de que o instrumento Chorus TRIO está bem configurado (ver Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras defeituosos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador do CHORUS TRIO).
9. Ao utilizar o instrumento CHORUS Autosampler (REF 81210), consultar o respetivo Manual do Utilizador.
10. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
11. A utilização de amostras altamente hemolisadas, lipémicas, ictericas, de soros coagulados de forma incompleta ou amostras com contaminação microbiana podem gerar resultados errados.
12. Não utilizar o dispositivo após o prazo de validade.
13. **Verificar se o instrumento está ligado ao Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 embalagens de 6 dispositivos cada

Descrição:



Posição 9: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 8: TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

Posição 7: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com um anticorpo monoclonal humano anti-ADL

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com um anticorpo monoclonal humano anti-ADL

Posição 5: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 4: CONJUGADO

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

Posição 3: TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

Posição 2: SUBSTRATO TMB

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 ADL e conservante.

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 1100 ml

Conteúdo: soro humano que contém ADL e conservante.

Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

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

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	até à data de validade a 2/8°C
CONTROLO POSITIVO	até à data de validade a 2/8°C

7. RECOLHA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

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

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

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

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

É fortemente recomendado evitar qualquer tratamento intensivo de amostras.

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

8. PROCEDIMENTO

O teste CHORUS Promonitor Adalimumab (REF. 86702) pode ser realizado simultaneamente SOMENTE com os outros testes CHORUS Promonitor.

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

AMOSTRA	50 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 do soro em análise pode ser interpretado da seguinte forma:

POSITIVO: quando o resultado for $\geq 0,30$ U/L

NEGATIVO: quando o resultado for $< 0,30$ µg/ml

11. LIMITAÇÕES

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 0,30-55,0 µg/ml

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

13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados pelo exame de 120 soros de doadores saudáveis são negativos, com valores $<0,30$ 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 - 45 mg/dl)
Triglicéridos (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobina (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

A 2 amostras Fator Reumatoide positivas (200 UI/ml) foi adicionado Adalimumab:

Nível elevado – 19,2 µg/ml
Nível médio – 6,1 µg/ml
Nível Baixo – 0,3 µg/ml

A presença de RF na amostra de soro não altera o resultado do teste.

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 15 amostras que não continham ADL mas várias concentrações de IFX - 5 amostras (11,2 - 48,4 µg/ml). ETN - 5 amostras (10,0 µg/ml) e HAMA - 5 amostras (38 - 86 ng/ml).

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 153 amostras com um kit Diesse e com um outro kit disponível no mercado. Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

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

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

100.0% IC_{95%}: 92,4-99,9

Percentagem de concordância negativa (~ especificidade diagnóstica):

100.0% IC_{95%}: 96,5-100,0

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

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

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

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

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

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

A correlação entre os dois métodos é muito elevada.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	16,1	7,0	16,7	6,5
2	9,1	6,3	8,7	3,6
3	3,9	5,4	3,9	7,4
4	0,47	12,8	0,47	10,6
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	19,7	3,8	17,5	13,9
2	9,1	10,9	8,9	13,4
3	5,1	6,7	4,0	12,8
4	0,50	6,0	0,46	13,0
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 3 amostras com concentrações conhecidas de Adalimumab. Foram realizadas pelo menos 8 diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 0,34 µg/ml a 55,0 µg/ml.

19. PRECISÃO

A precisão do teste foi avaliada através da medição da 1ª Norma Internacional para Adalimumab (código NIBSC): 16/236).

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

Concentração esperada de Adalimumab (µg/ml)	Concentração encontrada de Adalimumab (µg/ml)	Recuperação % (Critério de aceitação: 85-115)
25,0	25,4	102
12,5	11,1	89
6,3	6,5	103
3,1	3,5	113
1,6	1,8	113
0,78	0,85	109
0,39	0,44	113

20. BIOSIMILARES

Foi realizado um estudo de avaliação de enviesamento para testar a capacidade do dispositivo CHORUS Promonitor Adalimumab para quantificar alguns medicamentos biosimilares disponíveis comercialmente em comparação com o medicamento de referência (Humira®).

Os dados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

CHORUS Promonitor ADALIMUMAB			
	Nível 1	Nível 2	Nível 3
	Humira® - Amgevita®		
Concentração Humira® (µg/mL)	35,4	18,6	9,8
Bias Amgevita®-Humira®	-2,2	-1,9	-1,3
	Humira® - Imraldi		
Concentração Humira® (µg/mL)	33,7	17,8	9,3
Bias Imraldi- Humira®	-0,7	0,7	-0,9

21. BIBLIOGRAFIA

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

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



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Promonitor Adalimumab

Pentru determinarea cantitativă a Adalimumab (ADL) în serul uman

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZARE

CHORUS Promonitor Adalimumab este un kit de imunodizare pentru determinarea cantitativă automatizată a Adalimumab 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 Adalimumab (ADL), cum ar fi pacienții cu afecțiuni reumatice și gastrointestinale.

Acesta trebuie utilizat numai de către tehnicienii profesioniști de laborator.

2. INTRODUCERE

Adalimumab (ADL) este un anticorp monoclonal uman recombinant produs în celulele ovarelor de hamster chinezesc (CHO) utilizat în tratamentul bolilor inflamatorii. Aceste tulburări includ artrita reumatoidă (RA), artrita idiopatică juvenilă poliarticulară (JIA), artrita psoriazică (PA), spondilita anchilozantă (AS), boala Crohn (CD) și psoriazisul (PsO). ADL este un medicament biologic imunomodulator care leagă TNF- α , o citokină care joacă un rol important în patogenizarea acestor boli, inhibă legarea cu receptorul său și previne declanșarea cascadei inflamatorii. Ca și alte medicamente biologice, ADL poate duce la dezvoltarea de anticorpi anti-medicament (ADA). Studiile confirmă o corelație inversă semnificativă între biodisponibilitatea ADL și prezența ADA. Răspunsul clinic la ADL este strâns legat de nivelurile minime ale medicamentului și de prezența ADA. S-a demonstrat că imunogenicitatea ADL este asociată cu pierderea răspunsului clinic în RA, CD și PsO. În plus, pacienții care dezvoltă anticorpi anti-ADL au o probabilitate mai mare să nu răspundă la terapie, în timp ce pacienții cu niveluri terapeutice de medicament au o probabilitate mai mare să experimenteze un răspuns clinic adecvat la terapia cu ADL în RA și IBD (boala inflamatorie intestinală).

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS Promonitor Adalimumab este gata de utilizare pentru determinarea Adalimumab (ADL) în serul uman, în instrumentul CHORUS TRIO.

Testul se bazează pe o metodă ELISA „sandwich”.

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

ADL este capabil să se lege de anti-ADL pre-imobilizat după incubarea cu proba. După spălare pentru a îndepărta proba nelegată, se adaugă un anticorp anti-ADL marcat cu HRP (conjugat). O a doua etapă de incubare permite conjugatului să se lege de ADL

care a aderat la godeurile microplăcii. Anticorpii monoclonali împotriva ADL nu concurează cu TNF- α pentru legătura cu ADL. După spălare, pentru a elimina excesul de conjugat nelegat, se adaugă substratul pentru peroxidază. Reacția enzimatică este întreruptă prin adăugarea soluției de stopare, care îngălbenește soluția. Culoarea care se dezvoltă este proporțională cu cantitatea de medicament prezentă în proba pacientului.

Dispozitivele de unică folosință conțin toți reactivii pentru efectuarea testului când sunt aplicate la instrumentul Chorus TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în $\mu\text{g/ml}$ calculate cu referire la 1-ul Standard Internațional pentru Adalimumab (cod NIBSC: 16/236).

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 anticorpii 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.

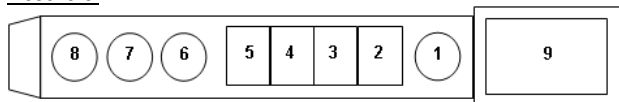
1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 2) colorat în albastru.**
2. Când adăugați proba în godeu, verificați ca aceasta să fie perfect distribuită pe fund.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în cazul cărora, 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 (vezi Manualul de utilizare).
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 un anticorp monoclonal uman anti-ADL

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

Acoperit cu un anticorp monoclonal uman anti-ADL

Poziția 5: SOLUȚIE DE STOPARE

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M

Poziția 4: CONJUGAT

Conținut: Anticorp anti-ADL marcat cu HRP și 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 ADL și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 1,100 ml

Conținut: ser uman care conține ADL 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	până la expirare la 2/8 °C
CONTROL POZITIV	până la expirare 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 4 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați-l la -20°C.

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 Adalimumab (REF. 86702) 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	50 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 $\geq 0,30$ µg/ml
NEGATIV: când rezultatul este $< 0,30$ µg/ml

11. LIMITĂRI

1. Trebuie măsurate nivelurile minime de ADL. Momentul optim pentru recoltarea probei este chiar cel de dinaintea injectării ADL.
2. Acest test măsoară ADL liber. Deși poate detecta ADL-ul legat de TNF- α , această contribuție este neglijabilă, deoarece concentrația de TNF- α circulant este de ordinul picogramelor pe mililitru.
3. Acest test nu măsoară ADL-ul legat de anticorpii anti-ADL (complexe imune) care ar fi putut fi dezvoltati de pacient din cauza imunogenicității medicamentului.
4. Acest test nu este destinat utilizării ca ajutor în diagnosticare și nici ca test de diagnosticare însoțitor. Medicul trebuie să

interpreteze rezultatele testului în contextul altor variabile, cum ar fi fereastra de eșantionare, metodologia, anticorpii anti-ADL și alte rezultate clinice, cum ar fi activitatea bolii.

5. Deși a fost confirmat faptul că dozarea funcționează cu plasmă, nu au fost stabilite caracteristicile de performanță ale dozării pe alte matrici decât serul.
6. Acest produs trebuie utilizat numai de personal profesionist de laborator care a beneficiat de instruire adecvată.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare: 0,30-55,0 µg/ml

Pentru probe > 55 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 $< 0,30$ 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 - 45 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 (200 UI/ml) au fost îmbogățite cu Adalimumab:

Nivel ridicat - 19,2 µg/ml
Nivel mediu - 6,1 µg/ml
Nivel scăzut - 0,3 µg/ml

Prezența RF în proba de ser nu modifică rezultatul testului.

15. REACȚII ÎNCRUCIȘATE

Au fost testate 15 probe care nu conțineau ADL, dar care conțineau diferite concentrații de IFX - 5 probe (11,2 - 48,4 µg/ml). ETN - 5 probe (10,0 µg/ml) și HAMA - 5 probe (38 - 86 ng/ml).

Nu au fost detectate reacții încrucișate.

16. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment, au fost analizate 153 de probe cu un kit Diesse și cu un alt kit din comerț.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

		Referință		
		+	-	Total
Diesse	+	47	0	47
	-	0	106	106
	Total	47	106	153

Procent de concordanță pozitivă (~ sensibilitate de diagnostic):
100,0% CI_{95%}: 92,4-99,9

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

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

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.

Din cele 153 de probe, la 47 de probe pozitive a fost testată corelația dintre kitul Dienes și un alt kit disponibil în comerț.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

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

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	16,1	7,0	16,7	6,5
2	9,1	6,3	8,7	3,6
3	3,9	5,4	3,9	7,4
4	0,47	12,8	0,47	10,6
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (μg/ml)	CV%	Medie (μg/ml)	CV%
1	19,7	3,8	17,5	13,9
2	9,1	10,9	8,9	13,4
3	5,1	6,7	4,0	12,8
4	0,50	6,0	0,46	13,0
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARITATE

Linearitatea testului a fost evaluată folosind 3 probe cu concentrații cunoscute de Adalimumab. Au fost efectuate cel puțin 8 diluții în serie pentru fiecare probă, care au demonstrat linearitatea metodei de la 0,34 μg/ml la 55,0 μg/ml.

19. PRECIZIE

Precizia testului a fost evaluată prin măsurarea 1-ului Standard Internațional pentru Adalimumab (cod NIBSC: 16/236).

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Concentrația preconizată de Adalimumab (μg/mL)	Concentrația de Adalimumab identificată (μg/ml)	Recuperare % (Criteriul de acceptare: 85-115)
25,0	25,4	102
12,5	11,1	89
6,3	6,5	103
3,1	3,5	113
1,6	1,8	113
0,78	0,85	109
0,39	0,44	113

20. BIOSIMILARE

A fost efectuat un studiu de evaluare a biasului pentru a testa capacitatea dispozitivului CHORUS Promonitor Adalimumab de a

cuantifica anumite medicamente biosimilare disponibile în comerț, prin comparație cu medicamentul de referință (Humira®).

Datele obținute sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

CHORUS Promonitor ADALIMUMAB			
	Nivelul 1	Nivelul 2	Nivelul 3
Humira® - Amgevita®			
Concentrația Humira® (μg/mL)	35,4	18,6	9,8
Bias Amgevita®-Humira®	-2,2	-1,9	-1,3
Humira® - Imraldi			
Concentrația Humira® (μg/mL)	33,7	17,8	9,3
Bias Imraldi-Humira®	-0,7	0,7	-0,9

21. BIBLIOGRAFIE

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

	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 până 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 příložené dokumenty	PT	Atenção, consulte a documentação incluída
	DE	Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen	RO	Atentie, consultați documentele însoțitoare
	EL	Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα		
	IT	Fabbricante	ES	Fabricante
	EN	Manufacturer	FR	Fabricant
	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 suficient pt <n> teste
	EL	Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις		
	IT	Limiti di temperatura	ES	Límite de temperatura
	EN	Temperature limitation	FR	Limites de température
	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 utilizarea 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 Skennzeichnung	RO	Marcajul de conformitate CE
	EL	Σημανση συμμορφωση CE		