

CHORUS Promonitor Infliximab

REF 86700



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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Promonitor Infliximab

Per la determinazione quantitativa di Infliximab (IFX) nel siero umano

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

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

Il prodotto, utilizzato in combinazione con altri risultati clinici e di laboratorio, è utile come ausilio nella gestione dei pazienti trattati con Infliximab (IFX), come i pazienti con malattia infiammatoria intestinale (IBD) e malattie reumatiche.

Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

2. INTRODUZIONE

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

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

Il test si basa su un metodo ELISA con anticorpo di cattura.

I pozzetti delle micropiastre sono pre-rivestiti con un anticorpo monoclonale umano anti-TNF- α legato a TNF- α ricombinante

umano. Calibratore, controllo positivo e campioni vengono aggiunti a un dispositivo separato.

IFX è in grado di legarsi al TNF- α pre-immobilizzato in seguito a incubazione con il campione. Dopo il lavaggio per eliminare il campione non legato, si aggiunge un anticorpo anti-IFX marcato con HRP (coniugato). Una seconda fase di incubazione consente al coniugato di legarsi all'IFX che ha aderito ai pozzetti della micropiastre. 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 Infliximab (codice NIBSC: 16/170).

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

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

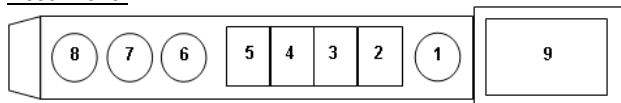
5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente 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-TNF-α legato a TNF-α umano ricombinante

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con un anticorpo monoclonale umano anti-TNF-α legato a TNF-α umano ricombinante

Posizione 5: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0,3 M

Posizione 4: CONIUGATO

Anticorpo anti-IFX 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 IFX e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: Siero umano contenente IFX e conservante.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

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

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

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8 °C
CALIBRATORE	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 Infliximab (REF. 86700) può essere eseguito contemporaneamente SOLO agli altri test CHORUS Promonitor.

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

CAMPIONE	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

Il test misura l'IFX libero. Non misura l'IFX legato agli anticorpi anti-IFX (immunocomplessi).

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

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

Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale di laboratorio professionale che abbia ricevuto una formazione adeguata.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 0.30-50.0 µg/ml

Per campioni > 50 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 delle sostanze interferenti sopra elencate nel siero in esame non altera il risultato del test.

2 campioni Fattore Reumatoide (RF) positivi (200 UI/ml) sono stati addizionati con Infliximab:

Livello alto - 27.9 µg/ml
Livello medio - 7.5 µg/ml
Livello basso - 4.2 µg/ml

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

15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 15 campioni, non contenenti IFX ma contenenti varie concentrazioni di ADL - 5 campioni (19.0 - 47.8 µg/ml). ETN - 5 campioni (20.0 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 165 campioni con un kit Diesse e un altro kit in commercio.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	50	0	50
	-	0	115	115
	Totale	50	115	165

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 92.9-99.9

Percentuale di concordanza negativa: (~ specificità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 96.8-100.0

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 165 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	0.98	0.96-0.99
Spearman	0.98	0.97-0.99

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	22.2	9.2	19.6	12.8
2	8.7	13.3	7.1	12.4
3	3.3	10.3	2.8	12.1
4	0.38	5.3	0.33	6.1
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	21.4	8.8	21.0	9.9
2	8.0	3.6	7.5	9.5
3	2.9	9.3	2.9	10.7
4	0.41	14.6	0.33	9.1
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

18. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 2 campioni con concentrazioni note di Infliximab. Sono state effettuate 10 diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 0.37 µg/ml a 48.9 µg/ml.

19. ACCURATEZZA

L'accuratezza del test è stata valutata misurando il 1° Standard Internazionale per Infliximab (codice NIBSC: 16/170).

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

Concentrazione di Infliximab attesa (µg/ml)	Concentrazione di Infliximab trovata (µg/ml)	Recupero % (Criterio di accettazione: 85-115)
25.0	21.7	87
12.5	11.5	92
6.3	6.8	108
3.1	3.1	100
1.6	1.5	94
0.78	0.88	113
0.39	0.42	108

20. BIOSIMILARI

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

I dati ottenuti sono riassunti nella seguente tabella:

	CHORUS Promonitor INFlixIMAB		
	Livello 1	Livello 2	Livello 3
Concentrazione Remicade® (µg/mL)	24.5	12.0	5.6
Bias Remsina-Remicade®	8.1	1.6	1.0
Bias Flixabi-Remicade®	5.0	2.6	1.9
Bias Zessly® - Remicade®	0.4	-1.4	0.8

21. BIBLIOGRAFIA

1. Wolbink et al "Development of anti-infliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 2006;54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491-2502



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Promonitor Infliximab

For the quantitative detection of Infliximab (IFX) in human serum

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

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

The product, used in conjunction with other clinical and laboratory findings, is useful as an aid in the management of patients treated with Infliximab (IFX), like patients with inflammatory bowel disease (IBD) and rheumatic diseases. It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

Infliximab (IFX) is a chimeric monoclonal antibody used as medication to treat a number of autoimmune diseases.

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

PRINCIPLE OF THE METHOD

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

The assay is based on a capture ELISA method.

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

IFX is able to bind to preimmobilized TNF α following incubation with the sample. After washing to remove the unbound sample,

a HRP-labelled anti-IFX antibody (conjugate) is added. A second incubation step allows the conjugate to bind to the IFX that has become attached to the microwells. After washing to remove the excess of unbound conjugate, the peroxidase substrate is added. The enzymatic reaction is stopped by adding Stop Solution, which makes the solution turn to yellow. The color which develops is proportional to the amount of 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 Infliximab (NIBSC code: 16/170).

3. 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/>)

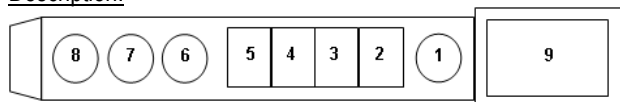
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be 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. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see Operating Manual).
11. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
12. 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.
13. Do not use the device after the expiry date.
14. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

4. 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-TNF α human monoclonal antibody bound to human recombinant TNF α

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with an anti-TNF α human monoclonal antibody bound to human recombinant TNF α

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

HRP-labelled anti-IFX 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 IFX, and preservative.

Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL 1 x 1.100 ml

Contents: Human serum containing IFX, 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 μ l solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

5. 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

6. 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.

7. ASSAY PROCEDURE

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

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the 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.

8. 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

9. 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

10. LIMITATIONS

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

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

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

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

11. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 0.30-50.0 µg/ml

For samples > 50 µg/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - not supplied with the kit).

12. 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.

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

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

High level - 27.9 µg/ml
Medium level - 7.5 µg/ml
Low level - 4.2 µg/ml

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

14. CROSS-REACTIONS

15 samples, not containing IFX, but containing various concentrations of ADL - 5 samples (19.0 - 47.8 µg/ml), ETN - 5 samples (20.0 µg/ml) and HAMA - 5 samples (38 - 86 ng/ml) were tested.

No cross-reactions were found.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 165 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	50	0	50
	-	0	115	115
	Tot.	50	115	165

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% CI_{95%}: 92.9-99.9

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% CI_{95%}: 96.8-100.0

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 165, 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	0.98	0.96-0.99
Spearman	0.98	0.97-0.99

The correlation between the two methods is very high.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	22.2	9.2	19.6	12.8
2	8.7	13.3	7.1	12.4
3	3.3	10.3	2.8	12.1
4	0.38	5.3	0.33	6.1
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	21.4	8.8	21.0	9.9
2	8.0	3.6	7.5	9.5
3	2.9	9.3	2.9	10.7
4	0.41	14.6	0.33	9.1
5	0.30	-	0.30	-
6	0.30	-	0.30	-

18. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 2 samples with known concentration of Infliximab. For each sample 10 serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 0.37-48.9 µg/ml.

19. ACCURACY

The accuracy of the test was assessed testing the 1st International Standard for Infliximab (NIBSC code: 16/170).

The data are summarized in the following table:

Expected Infliximab concentration (µg/ml)	Found Infliximab concentration (µg/ml)	Recovery % (Acceptance criteria: 85-115)
25.0	21.7	87
12.5	11.5	92
6.3	6.8	108
3.1	3.1	100
1.6	1.5	94
0.78	0.88	113
0.39	0.42	108

20. BIOSIMILARS

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

The data obtained are summarized in the following table:

	CHORUS Promonitor INFLIXIMAB		
	Level 1	Level 2	Level 3
Concentration Remicade® (µg/mL)	24.5	12.0	5.6
Bias Remsina-Remicade®	8.1	1.6	1.0
Bias Flixabi-Remicade®	5.0	2.6	1.9
Bias Zessly® - Remicade®	0.4	-1.4	0.8

21. BIBLIOGRAPHY

1. Wolbink et al "Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 2006;54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491–2502



POKYNY PRO POUŽITÍ

CHORUS Promonitor Infliximab

Pro kvantitativní stanovení infliximabu (IFX) v lidském séru

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

CHORUS Promonitor Infliximab je imunoanalytická souprava pro automatizované kvantitativní stanovení infliximabu (IFX) v lidském séru pomocí jednorázového nástroje aplikovaného na zařízení CHORUS TRIO.

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

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

2. ÚVOD

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

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS Promonitor IFX je připraven k použití pro stanovení infliximabu (IFX) v lidském séru v zařízení CHORUS TRIO.

Test je založen na metodě ELISA se zachytnou protilátkou.

Titrační jamky jsou předem potaženy lidskou monoklonální protilátkou anti-TNF- α vázanou na rekombinantní lidskou TNF- α . Kalibrátor, pozitivní kontrola a vzorky se přidávají do samostatného nástroje.

IFX je schopen se po inkubaci se vzorkem vázat na předem imobilizovaný TNF- α . Po promytí, aby se odstranil nenávaný

vzorek, se přidá protilátka anti-IFX značená HRP (konjugát). Druhá inkubační fáze umožňuje konjugátu se vázat na IFX, který ulpěl na mikrotitračních jamkách. Po promytí, aby se odstranil přebytečný nenávaný 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 infliximab (kód NIBSC: 16/170).

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 nevkládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

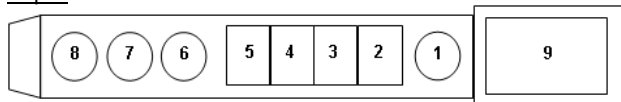
- Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 2) zlikvidujte.**
- Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
- Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagentů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
- 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 neměřte, 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-TNF-α vázanou na rekombinantní lidskou TNF-α

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-TNF-α vázanou na rekombinantní lidskou TNF-α

Pozice 5: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 4: KONJUGÁT

Protilátka anti-IFX značená HRP a pufr obsahující konzervant

Pozice 3: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervant

Pozice 2: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

Použití: nechte balení stabilizovat při pokojové teplotě, poté jej otevřete a vyjměte potřebné nástroje; ostatní vraťte do sáčku se siliciovým gelem, vypusťte vzduch a balení znovu neprodyšně uzavřete stisknutím uzávěru. Skladujte při teplotě 2-8 °C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.650 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující IFX a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 1.100 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující IFX a konzervant.

Tekutina připravená k použití.

DALŠÍ POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

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

6. ZPŮSOB SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagenty mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2/8°C
KALIBRÁTOR	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. Rozmražený vzorek je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Důrazně se doporučuje vyhnout se jakémukoli intenzivnímu zpracování vzorků.

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

8. POSTUP

Test CHORUS Promonitor Infliximab (REF. 86700) lze provádět současně POUZE s ostatními testy CHORUS Promonitor.

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte množství nástrojů požadované pro testy a poté, co z balení vytlačíte vzduch, je opět uzavřete.
2. Vizuálně zkontrolujte stav nástroje podle pokynů uvedených v 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

Test měří volný IFX. Neměří IFX vázaný na protilátky anti-IFX (imunokomplexy).

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

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

Tento produkt smí používat pouze odborný laboratorní personál, který prošel příslušným školením.

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 0,30-50,0 µg/ml

U vzorků > 50 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 v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

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

Vysoká hladina – 27,9 µg/ml
Střední hladina – 7,5 µg/ml
Nízká hladina – 4,2 µg/ml

Přítomnost RF v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

Bylo testováno 15 vzorků neobsahujících IFX, ale obsahujících různé koncentrace ADL – 5 vzorků (19,0 - 47,8 µg/ml). ETN – 5 vzorků (20,0 µg/ml) a HAMA – 5 vzorků (38 – 86 ng/ml). Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

16. SROVNÁNÍ METOD

V testu bylo analyzováno 165 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerčně dostupné soupravy. Data jsou shrnuta v následující tabulce:

		Reference		
Diesse	+	+	-	Celkem
	-	50	0	50
	Celkem	0	115	115
		50	115	165

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

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

Procento negativní konkordance: (~ diagnostická specifita):

100,0% CI_{95%}: 96,8-100,0

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 165 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	0,98	0,96-0,99
Spearman	0,98	0,97-0,99

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	22,2	9,2	19,6	12,8
2	8,7	13,3	7,1	12,4
3	3,3	10,3	2,8	12,1
4	0,38	5,3	0,33	6,1
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	21,4	8,8	21,0	9,9
2	8,0	3,6	7,5	9,5
3	2,9	9,3	2,9	10,7
4	0,41	14,6	0,33	9,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 2 vzorků se známými koncentracemi infliximabu. Pro každý vzorek bylo provedeno 10 sériových ředění, která prokázala linearitu metody od 0,37 µg/ml do 48,9 µg/ml.

19. PŘESNOST

Přesnost testu byla hodnocena měřením 1. mezinárodního standardu pro infliximab (kód NIBSC: 16/170).

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

Očekávaná koncentrace	Zjištěná koncentrace infliximabu (µg/ml)	Výtěžnost % (Kritérium
-----------------------	--	------------------------

infliximabu (µg/ml)		přijatelnosti: 85-115)
25,0	21,7	87
12,5	11,5	92
6,3	6,8	108
3,1	3,1	100
1,6	1,5	94
0,78	0,88	113
0,39	0,42	108

20. BIOSIMILARS

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

Získaná data jsou shrnuta v následující tabulce:

	CHORUS Promonitor INFLIXIMAB		
	Hladina 1	Hladina 2	Hladina 3
Koncentrace Remicade® (µg/mL)	24,5	12,0	5,6
Bias Remsina-Remicade®	8,1	1,6	1,0
Bias Flixabi-Remicade®	5,0	2,6	1,9
Bias Zessly® - Remicade®	0,4	-1,4	0,8

21. BIBLIOGRAFIE

1. Wolbink et al "Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 2006;54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491–2502



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Promonitor Infliximab

Zur quantitativen Bestimmung von Infliximab (IFX) in Humanserum

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

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

Das Produkt ist in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden hilfreich bei der Behandlung von Patienten, denen Infliximab (IFX) verabreicht wird, wie Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) und rheumatischen Erkrankungen.

Es darf nur von professionellen Labortechnikern verwendet werden.

2. EINLEITUNG

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

3. TESTPRINZIP

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

Der Test basiert auf einem Capture-Antikörper-ELISA-Verfahren.

Die Vertiefungen der Mikroplatten sind mit einem humanen monoklonalen Anti-TNF- α -Antikörper vorbeschichtet, der an rekombinantes humanes TNF- α gebunden ist. Kalibrator, Positivkontrolle und Proben kommen in ein separates Modul.

IFX ist in der Lage, sich nach der Inkubation mit der Probe an das vorimmobilisierte TNF- α zu binden. Nach dem Waschen zur Entfernung der ungebundenen Probe wird ein HRP-markierter Anti-IFX-Antikörper (Konjugat) zugegeben. Im zweiten Inkubationsschritt kann sich das Konjugat an das IFX binden, das an den Vertiefungen der Mikroplatte haftet. 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 Infliximab (NIBSC-Code: 16/170).

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.

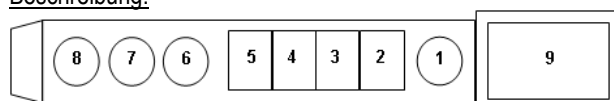
- Das Testmodul nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.
- Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Waschpuffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.**

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-TNF- α -Antikörper, der an rekombinantes humanes TNF- α gebunden ist

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit einem humanen monoklonalen Anti-TNF- α -Antikörper, der an rekombinantes humanes TNF- α gebunden ist

Position 5: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 4: KONJUGAT

HRP-markierter Anti-IFX-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 IFX und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

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

Inhalt: Humanserum mit IFX und Konservierungsmittel.

Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY **REF.** 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF.** 83609
- DESINFEKTIONS-LÖSUNG **REF.** 83604

- CHORUS
NEGATIVKONTROLLE/PROBENVERDÜNNUNGSMITTE
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 Infliximab-Test (REF. 86700) kann gleichzeitig NUR mit den anderen CHORUS Promonitor-Tests durchgeführt werden.

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

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

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

Der Test misst das freie IFX. Er misst kein IFX, das an Anti-IFX-Antikörper (Immunkomplexe) gebunden ist.

Alle erhaltenen Werte erfordern eine sorgfältige Interpretation, die andere Indikatoren in Bezug auf den Patienten berücksichtigen muss.

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

Dieses Produkt darf nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden, das angemessenen geschult wurde.

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 0,30–50,0 µg/ml

Bei Proben > 50 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 genannten Störsubstanzen im untersuchten Serum hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

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

Hoher Spiegel – 27,9 µg/ml

Mittlerer Spiegel – 7,5 µg/ml

Niedriger Spiegel – 4,2 µg/ml

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

15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 15 Proben getestet, die kein IFX, jedoch verschiedene Konzentrationen von ADL enthielten – 5 Proben (19,0–47,8 µg/ml). ETN – 5 Proben (20,0 µg/ml) und HAMA – 5 Proben (38–86 ng/ml).

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHSTUDIEN

Bei einem Versuch wurden 165 Proben mit einem Testsatz von Diesse und mit einem anderen im Handel erhältlichen Testsatz analysiert.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	50	0	50
	-	0	115	115
	Insgesamt	50	115	165

Positive Übereinstimmungsrate (~ diagnostische Sensitivität):

100,0 % KI₉₅ %: 92,9–99,9

Negative Übereinstimmungsrate (~ diagnostische Spezifität):

100,0 % KI₉₅ %: 96,8–100,0

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 165 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	0,98	0,96–0,99
Spearman	0,98	0,97–0,99

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	22,2	9,2	19,6	12,8
2	8,7	13,3	7,1	12,4
3	3,3	10,3	2,8	12,1
4	0,38	5,3	0,33	6,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	21,4	8,8	21,0	9,9
2	8,0	3,6	7,5	9,5
3	2,9	9,3	2,9	10,7
4	0,41	14,6	0,33	9,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 2 Proben mit bekannten Konzentrationen von Infliximab bewertet. Für jede Probe wurden 10 Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 0,37 µg/ml bis 48,9 µg/ml nachgewiesen wurde.

19. GENAUIGKEIT

Die Genauigkeit des Tests wurde durch Messung des 1. internationalen Standards für Infliximab (NIBSC-Code: 16/170) bewertet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Erwartete Infliximab-Konzentration (µg/ml)	Gemessene Infliximab-Konzentration (µg/ml)	Wiederfindungsrate % (Akzeptanzkriterium: 85–115)
25,0	21,7	87
12,5	11,5	92
6,3	6,8	108
3,1	3,1	100
1,6	1,5	94
0,78	0,88	113
0,39	0,42	108

20. BIOSIMILARS

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

Die erhaltenen Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

	CHORUS Promonitor INFLIXIMAB		
	Spiegel 1	Spiegel 2	Spiegel 3
Remicade®-Konzentration (µg/ml)	24,5	12,0	5,6
Bias Remsina-Remicade®	8,1	1,6	1,0
Bias Flixabi-Remicade®	5,0	2,6	1,9
Bias Zessly®-Remicade®	0,4	-1,4	0,8

21. LITERATUR

1. Wolbink et al "Development of antiinfiximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." *Arthritis Rheum* 2006;54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infiximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." *Rheumatology (Oxford)* 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infiximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". *Journal of Chron's and Colitis*, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infiximab and biosimilar infiximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" *Drug Design, Development and Therapy* 2019;13 2491–2502



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Promonitor Infliximab

Para la determinación cuantitativa de Infliximab (IFX) en suero humano

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

CHORUS Promonitor Infliximab es un kit de inmunoensayo para la determinación cuantitativa automatizada de Infliximab (IFX) 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 Infliximab (IFX), como los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y enfermedades reumáticas.

Para uso exclusivo de técnicos de laboratorio profesionales.

2. INTRODUCCIÓN

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

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El dispositivo CHORUS Promonitor IFX está listo para su uso para la determinación de Infliximab (IFX) en suero humano, en el equipo CHORUS TRIO.

La prueba se basa en un método ELISA con anticuerpo de captura.

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

El IFX puede unirse al TNF- α preinmovilizado tras la incubación con la muestra. Tras el lavado para eliminar la muestra no unida, se añade un anticuerpo anti-IFX marcado con HRP (conjugado). Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una al IFX que se ha adherido a los pocillos de la microplaca. 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 Infliximab (código NIBSC: 16/170).

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.

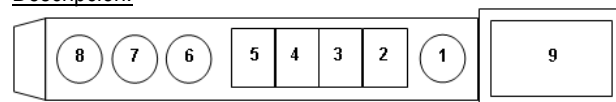
1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Al añadir la muestra al pocillo, comprobar que se distribuye perfectamente por el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia 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-TNF- α unido a TNF- α humano recombinante

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con un anticuerpo monoclonal humano anti-TNF- α unido a TNF- α humano recombinante

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: solución de ácido sulfúrico 0,3 M

Posición 4: CONJUGADO

Anticuerpo anti-IFX 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 IFX y conservante.

Líquido, listo para su uso.

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

Contenido: Suero humano que contiene IFX y conservante.

Líquido, listo para su uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY [REF.] 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 [REF.] 83609
- SANITIZING SOLUTION [REF.] 83604
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT [REF.] 83607
- Equipo CHORUS TRIO
- Agua destilada o desionizada
- Artículos de vidrio para laboratorio habituales: tubos, probetas, etc.
- Micropipetas que garanticen una obtención precisa de volúmenes de 50-200 μ l
- 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 Infliximab (REF. 86700) 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

La prueba mide el IFX libre. No mide IFX unido a anticuerpos anti-IFX (inmunocomplejos).

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

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

Este producto debe ser utilizado exclusivamente por personal de laboratorio profesional que haya recibido una formación adecuada.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 0,30-50,0 µg/ml

Para las muestras > 50 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 mencionadas sustancias interferentes en el suero analizado no altera el resultado de la prueba.

Se añadió Infliximab a 2 muestras Factor Reumatoidie (RF) positivas (200 UI/ml):

Nivel alto – 27,9 µg/ml
Nivel medio – 7,5 µg/ml

Nivel bajo – 4,2 µg/ml

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

15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 15 muestras que no contenían IFX, pero que contenían distintas concentraciones de ADL – 5 muestras (19,0 - 47,8 µg/ml). ETN – 5 muestras (20,0 µg/ml) y HAMA – 5 muestras (38 – 86 ng/ml).

No se encontraron reacciones cruzadas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 165 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

		Referencia		
		+	-	Total
	Diesse	50	0	50
	-	0	115	115
	Total	50	115	165

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100,0 % IC₉₅ %: 92,9-99,9

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

100,0 % IC₉₅ %: 96,8-100,0

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 165 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	0,98	0,96-0,99
Spearman	0,98	0,97-0,99

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	22,2	9,2	19,6	12,8
2	8,7	13,3	7,1	12,4
3	3,3	10,3	2,8	12,1
4	0,38	5,3	0,33	6,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (µg/ml)	CV %	Media (µg/ml)	CV %
1	21,4	8,8	21,0	9,9
2	8,0	3,6	7,5	9,5
3	2,9	9,3	2,9	10,7
4	0,41	14,6	0,33	9,1

5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 2 muestras con concentraciones conocidas de Infliximab. Se realizaron 10 diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 0,37 µg/ml a 48,9 µg/ml.

19. EXACTITUD

La precisión de la prueba se evaluó midiendo el primer Estándar Internacional para Infliximab (código NIBSC: 16/170).

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

Concentración esperada de Infliximab (µg/ml)	Concentración encontrada de Infliximab (µg/ml)	Recuperación % (Criterio de aceptación: 85-115)
25,0	21,7	87
12,5	11,5	92
6,3	6,8	108
3,1	3,1	100
1,6	1,5	94
0,78	0,88	113
0,39	0,42	108

20. BIOSIMILARES

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

Los datos obtenidos se resumen en la siguiente tabla:

	CHORUS Promonitor INFILIXIMAB		
	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3
Concentración de Remicade® (µg/ml)	24,5	12,0	5,6
Sesgo Remsina-Remicade®	8,1	1,6	1,0
Sesgo Flixabi-Remicade®	5,0	2,6	1,9
Sesgo Zessly® - Remicade®	0,4	-1,4	0,8

21. BIBLIOGRAFÍA

1. Wolbink et al "Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 2006; 54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491–2502



MODE D'EMPLOI

CHORUS Promonitor Infliximab

Pour la détermination quantitative de l'Infliximab (IFX) dans le sérum humain

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

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

Le produit, utilisé conjointement à d'autres résultats cliniques et résultats de laboratoire, est utile pour faciliter la prise en charge des patients traités à l'Infliximab (IFX), tels que les patients souffrant de pathologies intestinale (IBD) et de pathologies rhumatismales.

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

2. INTRODUCTION

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

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

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

Le test est basé sur une méthode ELISA avec anticorps de capture.

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

IFX est capable de se lier au TNF- α pré-immobilisé après incubation avec l'échantillon. Après le lavage, pour éliminer l'échantillon non lié, un anticorps anti-IFX marqué avec HRP (conjugué) est ajouté. Une deuxième phase d'incubation permet au conjugué de se lier à l'IFX qui a adhéré aux puits de la microplaque. 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 1^{er} Standard International pour l'Infliximab (code NIBSC : 16/170).

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.

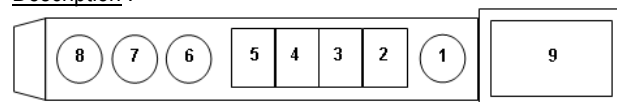
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 2) coloré de bleu.**
2. S'assurer que l'échantillon est parfaitement réparti sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puits.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif ; ne pas utiliser les dispositifs 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 icteriques, de sérum non complètement coagulé ou d'échantillons présentant une contamination microbienne peut constituer une source d'erreur.
12. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
13. **S'assurer que l'analyseur est connecté au Washing Buffer Autoimmunity (Réf. 86004).**

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Le kit permet de réaliser 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 conditionnements de 6 dispositifs chacun

Description :



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

Position 8 : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

Position 7 : Puits de la microplaque

Revêtu d'un anticorps monoclonal humain anti-TNF- α lié au TNF- α humain recombinant.

Position 6 : Puits de la microplaque

Revêtu d'un anticorps monoclonal humain anti-TNF- α lié au TNF- α humain recombinant.

Position 5 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 4 : CONJUGUÉ

Anticorps anti-IFX 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 : Puits 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 IFX et conservateur.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 1.100 ml

Contenu : Sérum humain contenant IFX et 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 μ l
- 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 Infliximab (RÉF. 86700) peut UNIQUEMENT être exécuté simultanément à d'autres tests CHORUS Promonitor.

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

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

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

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

9. VALIDATION DU TEST

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

d'acceptabilité, répéter le calibrage. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

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

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

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'analyseur CHORUS TRIO fournit le résultat en 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

Le test mesure l'IFX libre. Il ne mesure pas l'IFX lié aux anticorps anti-IFX (complexes immuns).

Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente qui doit tenir compte d'autres indicateurs relatifs au patient.

Le test ne peut pas être utilisé seul pour des décisions de prise en charge du patient et le résultat du test doit être évalué parallèlement aux antécédents médicaux du patient, à d'autres évaluations de diagnostic clinique et aux résultats de laboratoire.

Ce produit doit être utilisé exclusivement par un personnel de laboratoire professionnel ayant reçu une formation adéquate.

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 0,30-50,0 µg/ml

Pour les échantillons >50 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 des substances interférentes susmentionnées dans le sérum analysé n'altère pas le résultat du test.

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

Niveau élevé - 27,9 µg/ml
Niveau moyen - 7,5 µg/ml
Niveau bas - 4,2 µg/ml

La présence de RF dans le sérum examiné ne modifie pas le résultat du test.

15. RÉACTIONS CROISÉES

15 échantillons ont été testés, ne contenant pas d'IFX mais contenant diverses concentrations d'ADL - 5 échantillons (19,0 - 47,8 µg/ml). ETN - 5 échantillons (20,0 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, 165 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et avec un autre kit commercial.

Les données figurent dans le tableau suivant :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	50	0	50
	-	0	115	115
	Total	50	115	165

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) :

100,0 % IC₉₅ % : 92,9-99,9

Taux de concordance négative (~ spécificité diagnostique) :

100,0 % IC₉₅ % : 96,8-100,0

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

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

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

Sur les 165 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	0,98	0,96-0,99
Spearman	0,98	0,97-0,99

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	22,2	9,2	19,6	12,8
2	8,7	13,3	7,1	12,4
3	3,3	10,3	2,8	12,1
4	0,38	5,3	0,33	6,1
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	21,4	8,8	21,0	9,9
2	8,0	3,6	7,5	9,5
3	2,9	9,3	2,9	10,7
4	0,41	14,6	0,33	9,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée en utilisant 2 échantillons avec des concentrations connues d'Infliximab. 10 dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, ce qui a démontré la linéarité de la méthode de 0,37 µg/ml à 48,9 µg/ml.

19. PRÉCISION

La précision du test a été évaluée en mesurant le 1^{er} standard international pour l'Infliximab (code NIBSC : 16/170).

Les données figurent dans le tableau suivant :

Concentration d'Infliximab attendue (µg/mL)	Concentration d'Infliximab relevée (µg/mL)	Récupération % (Critère d'acceptation : 85-115)
25,0	21,7	87
12,5	11,5	92
6,3	6,8	108
3,1	3,1	100
1,6	1,5	94
0,78	0,88	113
0,39	0,42	108

20. BIOSIMILAIRES

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

Les données obtenues figurent dans le tableau suivant :

	CHORUS Promonitor INFILIXIMAB		
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Concentration Remicade® (µg/mL)	24,5	12,0	5,6
Biais Remsina-Remicade®	8,1	1,6	1,0
Biais Flixabi-Remicade®	5,0	2,6	1,9
Biais Zessly® - Remicade®	0,4	-1,4	0,8

21. BIBLIOGRAPHIE

1. Wolbink et al "Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 2006; 54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013; 52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491–2502



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor Infiximab

Para a determinação quantitativa de Infiximab (IFX) em soro humano

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor Infiximab é um kit de imunoensaio para a determinação quantitativa automatizada do Infiximab (IFX) 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 Infiximab (IFX), tais como doentes com doença inflamatória intestinal (DII) e doenças reumáticas.

Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

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

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

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

Os poços das microplacas são pré-revestidos com um anticorpo monoclonal humano anti-TNF- α ligado ao TNF- α

humano recombinante. Calibrador, controlo positivo e amostras são adicionados a um dispositivo separado.

O IFX é capaz de se ligar ao TNF- α pré-imobilizado após a incubação com a amostra. Após a lavagem para remover a amostra não ligada, é adicionado um anticorpo anti-IFX marcado com HRP (conjugado). Uma segunda fase de incubação permite que o conjugado se ligue ao IFX que aderiu aos poços da microplaca. 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 Infiximab (código NIBSC): 16/170).

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

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

Advertências analíticas

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

1. **Eliminar os dispositivos com substrato (poço 2) azul.**
2. Ao adicionar a amostra no poço, assegurar-se de que fica perfeitamente distribuída no fundo.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento CHORUS TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.

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

[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](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-TNF- α ligado ao TNF- α humano recombinante

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com um anticorpo monoclonal humano anti-TNF- α ligado ao TNF- α humano recombinante

Posição 5: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 4: CONJUGADO

Anticorpo anti-IFX 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 IFX e conservante.

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Conteúdo: Soro humano que contém IFX e conservante.

Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

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

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8 °C
CALIBRADOR	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 Infiximab (REF. 86700) 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
e-mail: 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

O teste mede o IFX livre. Não mede o IFX ligado a anticorpos anti-IFX (imunocomplexos).

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

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

Este produto só deve ser utilizado por profissionais de laboratório que tenham recebido formação adequada.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 0,30-50,0 µg/ml

Para amostras > 50 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 das substâncias interferentes acima enumeradas no soro em exame não afeta o resultado do teste.

A 2 amostras positivas do Fator Reumatoide (RF) (200 UI/ml) foi adicionado Infiximab:

Nível elevado - 27,9 µg/ml
Nível médio - 7,5 µg/ml
Nível Baixo - 4,2 µg/ml

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

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 15 amostras que não continham IFX mas com várias concentrações de ADL - 5 amostras (19,0 - 47,8 µg/ml). ETN - 5 amostras (20,0 µg/ml) e HAMA - 5 amostras (38 - 86 ng/ml).

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 165 amostras com um kit Diesse e com um outro kit disponível no mercado.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

		Referência		Total
		+	-	
Diesse	+	50	0	50
	-	0	115	115
	Total	50	115	165

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

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

Percentagem de concordância negativa (~ especificidade diagnóstica):

100.0% IC_{95%}: 96,8-100,0

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 165 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	0,98	0,96-0,99
Spearman	0,98	0,97-0,99

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	22,2	9,2	19,6	12,8
2	8,7	13,3	7,1	12,4
3	3,3	10,3	2,8	12,1
4	0,38	5,3	0,33	6,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	21,4	8,8	21,0	9,9
2	8,0	3,6	7,5	9,5
3	2,9	9,3	2,9	10,7
4	0,41	14,6	0,33	9,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 2 amostras com concentrações conhecidas de Infliximab. Foram realizadas 10 diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 0,37 µg/ml a 48,9 µg/ml.

19. PRECISÃO

A precisão do teste foi avaliada através da medição da 1ª Norma Internacional para Infliximab (código NIBSC): 16/170).

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

Concentração esperada de	Concentração encontrada de	Recuperação % (Critério de
--------------------------	----------------------------	----------------------------

Infliximab (µg/ml)	Infliximab (µg/ml)	aceitação: 85-115)
25,0	21,7	87
12,5	11,5	92
6,3	6,8	108
3,1	3,1	100
1,6	1,5	94
0,78	0,88	113
0,39	0,42	108

20. BIOSIMILARES

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

Os dados obtidos estão resumidos na tabela a seguir:

	CHORUS Promonitor INFLIXIMAB		
	Nível 1	Nível 2	Nível 3
Concentração Remicade® (µg/mL)	24,5	12,0	5,6
Enviesamento Remsina-Remicade®	8,1	1,6	1,0
Enviesamento Flixabi-Remicade®	5,0	2,6	1,9
Enviesamento Zessly® -Remicade®	0,4	-1,4	0,8

21. BIBLIOGRAFIA

1. Wolbink et al "Development of anti-infliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Arthritis Rheum 2006; 54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491–2502



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

CHORUS Promonitor Infiximab

Per la determinazione quantitativa di Infiximab (IFX) nel siero umano

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZARE

CHORUS Promonitor Infiximab este un kit de imunodizare pentru determinarea cantitativă automatizată a Infiximab (IFX) 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 Infiximab (IFX), cum ar fi pacienții suferinzi de boala inflamatorie a intestinului (IBD) și de afecțiuni reumatice.

Acesta trebuie utilizat numai de către tehnicienii profesioniști de laborator.

2. INTRODUCERE

Infiximab (IFX) este un anticorp monoclonal himeric utilizat ca medicament în tratarea unei serii de boli autoimune, printre care boala Crohn, colita ulcerasă, artrita reumatoidă, spondilita anchilozantă, psoriazisul, artrita psoriazică și boala Behçet. Se administrează prin injecție lentă într-o venă, de obicei la intervale de șase până la opt săptămâni. Infiximab pare să acționeze legându-se la TNF- α și neutralizându-l, împiedicându-l să interacționeze cu receptorii respectivi de pe celulă. TNF- α este un mesager chimic (citokină) și un element fundamental al reacției autoimune. Infiximab a fost dezvoltat inițial la șoareci ca anticorp murin. Pe măsură ce oamenii dezvoltă reacții imune la proteinele de șoarece, domeniile comune de șoarece au fost înlocuite cu domenii de anticorpi umani similare. Aceștia sunt anticorpi monoclonali cu structuri și afinități identice cu ținta. Deoarece sunt o combinație de secvențe de aminoacizi ai anticorpilor umani și murini, se numesc „anticorpi monoclonali himerici”. Cu toate acestea, uneori, IFX nu reușește să ofere un răspuns clinic satisfăcător la pacienți, iar acest lucru se datorează adesea generării de anticorpi anti-medicament (ADA) sau altor efecte nedorite, cum ar fi infecții, reacții acute la perfuzie și dureri abdominale. Infiximab a fost aprobat pentru uz medical în Statele Unite în 1998 și în Uniunea Europeană în august 1999.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivul CHORUS Promonitor IFX este gata de utilizare pentru determinarea Infiximab (IFX) în ser uman, în instrumentul CHORUS TRIO.

Testul se bazează pe metoda ELISA cu anticorp de captare. Godeurile microplăcilor sunt pre-acoperite cu anticorp monoclonal uman anti-TNF- α legat la TNF- α uman recombinant. Calibratorul, controlul pozitiv și probele sunt adăugate la un dispozitiv separat.

IFX este capabil să se lege de TNF- α pre-imobilizat după incubarea cu proba. După spălare pentru a îndepărta proba nelegată, se adaugă un anticorp anti-IFX marcat cu HRP (conjugat). O a doua etapă de incubare permite conjugatului să se lege de IFX care a aderat la godeurile microplăcii. 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 atunci când sunt aplicate pe instrumentul CHORUS TRIO.

Rezultatele sunt exprimate în $\mu\text{g/ml}$ calculate cu referire la 1-ul Standard Internațional pentru Infiximab (cod NIBSC: 16/170).

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/>)

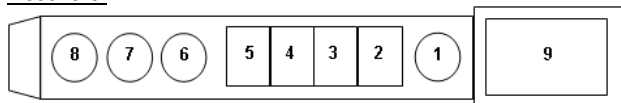
5. Verificați dacă instrumentul CHORUS TRIO este setat corect (vezi Manualul de utilizare).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea congelatoarelor cu autodecongelare pentru depozitarea probelor.
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-TNF-α legat de TNF-α uman recombinant

Poziția 6: GODEU DE MICROPLACĂ

Acoperit cu un anticorp monoclonal uman anti-TNF-α legat de TNF-α uman recombinant

Poziția 5: SOLUȚIE DE STOPARE

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M

Poziția 4: CONJUGAT

Anticorp anti-IFX 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 IFX și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV 1 x 1,100 ml

Conținut: Ser uman care conține IFX și conservant.

Lichid, gata de utilizare.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

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

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

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

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

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere:

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

7. COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR

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

Consecințele utilizării altor fluide biologice nu sunt cunoscute.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 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 Infliximab (REF. 86700) 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

NEGAT: când rezultatul este $< 0,30$ µg/ml

11. LIMITĂRI

Testul măsoară IFX liber. Nu măsoară IFX legat de anticorpii anti-IFX (complexe imune).

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

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

Acest produs trebuie utilizat numai de personal profesionist de laborator care a beneficiat de instruire adecvată.

12. INTERVALUL DE CALIBRARE

Interval de calibrare: 0,30-50,0 ug/ml

Pentru probe > 50 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 enumerate mai sus în serul examinat nu modifică rezultatul testului.

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

Nivel ridicat - 27,9 µg/ml
Nivel mediu - 7,5 µg/ml
Nivel scăzut - 4,2 µg/ml

Prezența RF în serul testat nu modifică rezultatul testului.

15. REACȚII ÎNCRUCIȘATE

Au fost testate 15 probe care nu conțineau IFX, dar care conțineau diferite concentrații de ADL - 5 probe (19,0 - 47,8 µg/ml). ETN - 5 probe (20,0 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 165 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	+	50	0	50
	-	0	115	115
	Total	50	115	165

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

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

100,0% CI_{95%}: 96,8-100,0

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 165 de probe, la 47 de probe pozitive a fost testată corelația dintre kitul Dicesse și un alt kit disponibil în comerț.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Corelare	r	IC 95%
Pearson	0,98	0,96-0,99
Spearman	0,98	0,97-0,99

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	22,2	9,2	19,6	12,8
2	8,7	13,3	7,1	12,4
3	3,3	10,3	2,8	12,1
4	0,38	5,3	0,33	6,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (μg/ml)	CV%	Medie (μg/ml)	CV%
1	21,4	8,8	21,0	9,9
2	8,0	3,6	7,5	9,5
3	2,9	9,3	2,9	10,7
4	0,41	14,6	0,33	9,1
5	0,30	-	0,30	-
6	0,30	-	0,30	-

18. LINEARITATE

Linearitatea testului a fost evaluată folosind 2 probe cu concentrații cunoscute de Infliximab. Au fost efectuate 10 diluții în serie pentru fiecare probă, care au demonstrat linearitatea metodei de la 0,37 μg/ml la 48,9 μg/ml.

19. PRECIZIE

Precizia testului a fost evaluată prin măsurarea 1-ului Standard Internațional pentru Infliximab (cod NIBSC: 16/170).

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Concentrația preconizată de Infliximab (μg/mL)	Concentrația de Infliximab identificată (μg/ml)	Recuperare % (Criteriul de acceptare: 85-115)
25,0	21,7	87
12,5	11,5	92
6,3	6,8	108
3,1	3,1	100
1,6	1,5	94
0,78	0,88	113
0,39	0,42	108

20. BIOSIMILARE

A fost efectuat un studiu de evaluare a biasului pentru a testa capacitatea dispozitivului CHORUS Promonitor Infliximab de a cuantifica anumite medicamente biosimilare disponibile în comerț, prin comparație cu medicamentul de referință (Remicade®).

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

	CHORUS Promonitor INFLIXIMAB		
	Nivelul 1	Nivelul 2	Nivelul 3
Concentrația Remicade® (μg/mL)	24,5	12,0	5,6
Bias Remsina-Remicade®	8,1	1,6	1,0
Bias Flixabi-Remicade®	5,0	2,6	1,9
Bias Zessly® - Remicade®	0,4	-1,4	0,8

21. BIBLIOGRAFIE

1. Wolbink et al "Development of antiinfliximab antibodies and relationship to clinical response in patients with rheumatoid arthritis." Artrita Rheum 2006;54:711
2. Palermo et al "The frequency of anti-infliximab antibodies in patients with rheumatoid arthritis treated in routine care and the associations with adverse drug reactions and treatment failure." Rheumatology (Oxford) 2013;52:1245
3. Lichtenstein et al "Infliximab-Related Infusion Reactions: Systematic Review". Journal of Chron's and Colitis, 2015, 806-815
4. Subedi et al. "Infliximab and biosimilar infliximab in psoriasis: efficacy, loss of efficacy, and adverse events" Drug Design, Development and Therapy 2019;13 2491–2502

	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 a utiliza consultați instrucțiunile
	EL	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		
	IT	Rischio biologico	ES	Riesgo biológico
	EN	Biological risks	FR	Risques biologiques
	CS	Biologická rizika	PT	Risco biológico
	DE	Biologisches Risiko	RO	Risk biologic
	EL	Βιολογικοί κίνδυνοι		
REF	IT	Numero di catalogo	ES	Número de catálogo
	EN	Catalogue number	FR	Référence du catalogue
	CS	Katalogové číslo	PT	Referência de catálogo
	DE	Katalognummer	RO	Numar de catalog
	EL	Αριθμός καταλόγου		
IVD	IT	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	ES	Producto sanitario para diagnóstico in vitro
	EN	In Vitro Diagnostic Medical Device	FR	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	CS	Lékařské vybavení pro diagnostiku in vitro	PT	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	DE	Medizinisches In-vitro-Diagnostikum	RO	Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro
	EL	In 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	Σημάνση συμμορφωσης CE		