

**CHORUS
Promonitor
ETANERCEPT**

REF 86706

CE
0123



DIESSE

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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

CHORUS Promonitor ETANERCEPT è un kit di immunodosaggio per la determinazione quantitativa automatizzata di Etanercept 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 Etanercept (ETN), come i pazienti con malattie reumatiche.

Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

2. INTRODUZIONE

Etanercept (ETN) è una proteina di fusione dimerica geneticamente modificata formata dal dominio di legame del ligando extracellulare di TNFR2 (recettore del fattore di necrosi tumorale di tipo II) al dominio Fc delle IgG1 umane. ETN lega le citochine proinfiammatorie trimeriche TNF α (fattore di necrosi tumorale alfa) e LT α (linfotossina alfa), prevenendo il legame con i loro recettori e di conseguenza la cascata infiammatoria. Il farmaco è utilizzato per il trattamento di diverse malattie infiammatorie come l'artrite reumatoide (RA), l'artrite idiopatica giovanile poliarticolare (AIG), l'artrite psoriasica (PA), la spondilite anchilosante (AS) e la psoriasi a placche (PSO). Etanercept è il meno immunogenico dei farmaci anti-TNF α . Nel caso di altri trattamenti anti-TNF come infliximab (IFX) e adalimumab (ADL), è stato ampiamente dimostrato che bassi livelli di farmaco e formazione di anticorpi anti-farmaco (ADA) sono fortemente correlati a una perdita della risposta clinica in diverse patologie. È stato dimostrato che tutti gli anticorpi anti-etanercept rilevati non sono neutralizzanti. Si ritiene che gli anticorpi anti-etanercept siano diretti alla regione cerniera della molecola, quindi non abbiano un impatto sull'attività di legame del TNF α e sull'efficacia clinica. A parte altri aspetti correlati alla malattia, i livelli di etanercept in circolazione sembrano svolgere un ruolo rilevante nella risposta clinica.

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

Il test si basa su un metodo ELISA a sandwich.

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

L'ETN è in grado di legarsi all'anti-ETN pre-immobilizzato in seguito a incubazione con il campione. Dopo il lavaggio per eliminare il campione non legato, si aggiunge un anticorpo anti-ETN marcato con HRP (coniugato). Una seconda fase di

incubazione consente al coniugato di legarsi all'ETN che ha aderito ai pozzetti della micropiastre.

Dopo il lavaggio per eliminare il coniugato non legato, si aggiunge il substrato per la perossidasi. La reazione enzimatica viene interrotta aggiungendo la soluzione di arresto, che fa virare la soluzione al giallo. Il colore che si sviluppa è proporzionale alla quantità di ETN 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 "WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, Human rDNA derived), (codice NIBSC: 13/204)".

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 sul sito DIESSE: www.diesse.it).
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 le buste contenenti i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) per almeno 30 minuti.

Usare il dispositivo entro 60 minuti.

1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 2) colorato di blu.**
2. Se il campione è aggiunto al pozzetto manualmente verificare che sia perfettamente distribuito.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso; non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento CHORUS TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'uso e il Manuale utente dello strumento.
L'utilizzo del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata del software. Assicurarsi che il software installato sullo strumento sia una versione (Rel.) corrispondente o successiva a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi il relativo Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinatori per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente del CHORUS TRIO).
9. In caso di utilizzo dello strumento CHORUS Autosampler (REF 81210), riferirsi al relativo Manuale utente.
10. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
11. Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici, itterici con una concentrazione di interferenti superiore a quella testata (secondo le indicazioni riportate nel capitolo "Specificità analitica").
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 12 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 2 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

Sensibilizzato con anticorpo monoclonale umano anti-ETN (concentrazione 0.5 µg/mL)

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con anticorpo monoclonale umano anti-ETN (concentrazione 0.5 µg/mL)

Posizione 5: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 4: CONIUGATO

Contenuto: Anticorpo anti-ETN marcato con HRP in tampone contenente conservante (concentrazione 0.04 µg/mL)

Posizione 3: TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

Posizione 2: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina in tampone citrato

Posizione 1: POZZETTO VUOTO in cui deve essere aggiunto il campione del paziente.

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 ETN (concentrazione 70 ng/mL) e conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Contenuto: Siero umano contenente ETN (concentrazione 70 ng/mL) e conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.

Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

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

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

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

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

7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per venipuntura e maneggiato in accordo a procedure standard di laboratorio.

Secondo la linea guida NCCLS CLSI H18-A3 i campioni di siero da analizzare devono essere coagulati prima della centrifugazione; la coagulazione spontanea e completa avviene normalmente entro 30-60 minuti a 22°C-25°C. Si raccomanda di separare fisicamente il siero, mediante centrifugazione, dal contatto con le cellule il più presto possibile con un limite di tempo massimo di 2 ore dal momento della raccolta.

Il siero fresco può essere mantenuto per 5 giorni a 2/8°C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti.

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

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

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 ETANERCEPT (REF. 86706) può essere eseguito contemporaneamente SOLO agli altri test CHORUS Promonitor.

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

CAMPIONE	130 µl/dispositivo
CALIBRATORE	130 µl/dispositivo
CONTROLLO POSITIVO	130 µl/dispositivo

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

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

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

POSITIVO: quando il risultato è ≥ 0.14 µg/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 0.14 µg/ml

11. LIMITAZIONI

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

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

Il medico deve interpretare i risultati nel contesto di altre variabili come finestra di campionamento, metodologia, livelli di ETN e altri riscontri clinici come l'attività della malattia.

Le caratteristiche prestazionali del dosaggio non sono state determinate per matrici diverse dal siero.

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

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione: 0.14-13.0 µg/ml

Per campioni > 13.0 µg/ml, ripetere il test diluendo il campione con Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - non fornito con il kit).

13. RANGE DI RIFERIMENTO

Nella popolazione normale i valori attesi, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, sono negativi, con valori < 0.14 µg/ml.

14. SPECIFICITÀ ANALITICA

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

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

La presenza nel siero in esame di sostanze interferenti sopra riportate (con l'eccezione di Trigliceridi > 750 mg/dl) non altera il risultato del test.

3 campioni Fattore Reumatoide (RF) positivi 92.6 UI/ml (1) e 100 UI/ml (2) sono stati addizionati con Etanercept.

Livello alto – 9.0 µg/ml
Livello basso – 0.50 µg/ml
Negativo – < 0.14 µg/ml

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

15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 12 campioni, non contenenti Etanercept ma contenenti varie concentrazioni di IFX (5.3-24.2 µg/ml) – 7 campioni e ADL (1.4-29.2 µg/ml) – 5 campioni.

Non sono state rilevate reazioni crociate.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 171 campioni con il kit Diesse ed il kit Promonitor ETN ELISA.

I dati sono riassunti nella seguente tabella.

Diesse		Riferimento		
		+	-	Totale
	+	42	0	42
	-	0	129	129
	Totale	42	129	171

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 91.6-99.9

Percentuale di concordanza negativa (~ specificità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 97.1-100.0

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

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

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

Dei 171 campioni, su 42 campioni positivi è stata testata la correlazione tra il kit Diesse ed il kit Promonitor ETN ELISA.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

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

La correlazione tra i due metodi è molto elevata.

17. PRECISIONE E RIPETIBILITÀ

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	11.7	9.1	9.2	4.3
2	5.8	3.6	4.8	10.8
3	1.0	6.0	1.0	9.4
4	0.56	3.6	0.53	3.8
5	<0.14	-	<0.14	-
6	<0.14	-	<0.14	-

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	9.9	9.9	8.6	9.2
2	4.7	11.7	4.6	8.5
3	0.91	12.1	0.89	11.2
4	0.71	12.7	0.49	8.2
5	<0.14	-	<0.14	-
6	<0.14	-	<0.14	-

18. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 4 campioni con concentrazioni note di Etanercept. Sono state effettuate diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 0.20 a 13.0 µg/ml.

19. BIOSIMILARI

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

I dati ottenuti sono riassunti nella seguente tabella.

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Level 1	Level 2	Level 3
Concentrazione Etanercept Enbrel (µg/mL)	10.4	4.4	0.59
Bias Etanercept Erelzi	2.1	1.1	0.2
Bias Etanercept Benepali	-0.1	0.1	0.0

20. BIBLIOGRAFIA

1. Zhao S, et al. "Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis". Immunotherapy. 2018 Mar 1;10(6):433-445.
2. Jamnitski, A., et al... "Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients". Ann.Rheum.Dis. 2012; 71:88-91.
3. Emi Aikawa, et al. "Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases". Clin Rev.Allergy Immunol. 2010;38:82-89.
4. de Vries, M. et al. "Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis". Ann.Rheum.Dis. 2009; 68:531-535.
5. Dore, R. K., et.al "The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis". Clin.Exp.Rheumatol. 2007; 25:40-46.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. SEGNALE DI INCIDENTE

Se si è verificato un incidente grave in relazione a questo dispositivo nel territorio di mercato dell'Unione Europea, si prega di segnalarlo senza indugio al produttore e all'autorità competente del proprio Stato membro.



INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

For the quantitative detection of Etanercept in human serum

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED PURPOSE

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

The product, used in conjunction with other clinical and laboratory results, is useful as an aid in the management of patients treated with Etanercept (ETN), such as patients with rheumatic diseases.

It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

Etanercept (ETN) is a genetically engineered dimeric fusion protein formed by the extracellular ligand binding domain of TNFR2 (type II Tumor Necrosis Factor- α Receptor) to the Fc domain of human IgG1. It binds trimeric TNF α (Tumor Necrosis factor alpha) and LT α (lymphotoxin alpha) proinflammatory cytokines, preventing binding with their receptors and consequently the inflammatory cascade. The drug is used for the treatment of several inflammatory diseases like rheumatoid arthritis (RA), polyarticular juvenile idiopathic arthritis (JIA), psoriatic arthritis (PA), ankylosing spondylitis (AS), and plaque psoriasis (PSO). Etanercept is the least immunogenic of anti-TNF α drugs. In the case of other anti-TNF treatments like infliximab (IFX) and adalimumab (ADL), it has been extensively demonstrated that low drug levels and anti-drug antibodies (ADA) formation strongly correlate with a loss of clinical response in several pathologies. All detected anti-etanercept antibodies have been shown to be non-neutralizing. Anti-etanercept antibodies are thought to be directed to the hinge region of the molecule, therefore not having an impact on TNF α binding activity and clinical efficacy. Apart from other disease-related aspects etanercept levels in circulation seem to play a relevant role in the clinical response.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

The assay is based on a sandwich ELISA method.

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

ETN is able to bind to preimmobilized anti-ETN antibodies following incubation with the sample. After washing to remove the unbound sample, an HRP-labelled anti-ETN antibody (conjugate) is added. A second incubation step allows the conjugate to bind to the ETN 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 ETN 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 "WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, Human rDNA derived), (NIBSC code: 13/204)".

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS TRIO instrument.
4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on DIESSE website: www.diesse.it) 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

Before use, bring the envelopes containing the devices to be used to room temperature (18-30°C) for at least 30 minutes. Use the device within 60 minutes.

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

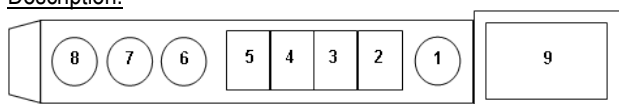
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.
4. The devices are for use with the CHORUS TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.
The use of the kit is only possible with CHORUS TRIO with an updated version of software. Make sure that the software installed in the instrument corresponds or has a Release (Rel.) subsequent to the one reported in the table published on Diesse website
(<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see CHORUS TRIO Operating Manual).
9. When CHORUS Autosampler (REF 81210) is used, refer to the related Operating Manual
10. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
11. Do not use hemolyzed, lipemic, jaundiced samples with a higher concentration of interferents than tested (according to the guidance in the "Analytical Specificity" chapter).
12. Do not use the device after the expiry date.
13. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 12 tests.

DD DEVICES 2 packages each containing 6 devices

Description:



Position 9: Space for application of bar code label

Position 8: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with anti-ETN monoclonal antibody (concentration 0.5 µg/mL)

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with anti-ETN monoclonal antibody (concentration 0.5 µg/mL)

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

HRP-labelled anti-ETN antibody and buffer containing preservative (concentration 0.04 µg/mL).

Position 3: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative.

Position 2: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 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 ETN (concentration 70 ng/mL) and preservative BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.
Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL **1 x 1.100 ml**
Contents: Human serum containing ETN (concentration 70 ng/mL) and preservative BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.
Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum obtained from blood drawn by venipuncture and handled according to standard laboratory procedures.

According to NCCLS CLSI guideline H18-A3, serum samples for analysis should be coagulated before centrifugation; spontaneous and complete coagulation normally occurs within 30-60 minutes at 22°C-25°C. It is recommended that serum be physically separated by centrifugation from cell contact as soon as possible with a maximum time limit of 2 hours from the time of collection.

The fresh serum may be stored for 5 days at 2/8°C and can be thawed a maximum of 3 times.

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

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

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

8. ASSAY PROCEDURE

The test CHORUS Promonitor Etanercept (REF 86706) can be performed simultaneously **ONLY** with the other CHORUS Promonitor tests.

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense the following volumes in well no. 1 of each device:

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

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

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

9. TEST VALIDATION

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

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

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

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

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

POSITIVE: when the result is ≥ 0.14 µg/ml

NEGATIVE: when the result is < 0.14 µg/ml

11. LIMITATIONS

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

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

The clinician should evaluate the results together with other clinical diagnostic evaluation such as sampling window, methodology, ETN levels and disease activity.

The characteristics of the assay have not been determined for sample matrix other than serum.

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

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range: 0.14-13.0 µg/ml

For samples > 13.0 µg/ml retest the diluted sample in the Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - not supplied with the kit).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, are negative, with values < 0.14 µg/ml.

14. ANALYTICAL SPECIFICITY

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

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

The presence of the above interfering substances (with the exception of triglycerides > 750 mg/dl) in the test serum does not alter the test result.

3 Rheumatoid Factor (RF) positive samples 92.6 IU/ml (1) and 100 IU/mL (2) were spiked with Etanercept:

High level - 9.0 µg/ml
Low level - 0.50 µg/ml
Negative - < 0.14 µg/ml

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

15. CROSS-REACTIONS

12 samples, not containing Etanercept, but containing various concentrations, of IFX (5.3-24.2 µg/ml) - 7 samples, ADL (1.4-29.2 µg/ml) - 5 samples, were tested.

No cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 171 samples have been tested with Diesse kit and with Promonitor ETN ELISA kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
Diesse	+	42	0	42
	-	0	129	129
	Tot.	42	129	171

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

100.0% IC_{95%}: 91.6-99.9

Percent Negative Agreement (~Diagnostic Specificity):

100.0% IC_{95%}: 97.1-100.0

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

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

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

Out of 171, for 42 positive samples the correlation between Diesse kit and Promonitor ETN ELISA kit was tested.

Data are summarized in the following table:

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

The correlation between the two methods is very high.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	11.7	9.1	9.2	4.3
2	5.8	3.6	4.8	10.8
3	1.0	6.0	1.0	9.4
4	0.56	3.6	0.53	3.8
5	<0.14	-	<0.14	-
6	<0.14	-	<0.14	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	9.9	9.9	8.6	9.2
2	4.7	11.7	4.6	8.5
3	0.91	12.1	0.89	11.2
4	0.71	12.7	0.49	8.2
5	<0.14	-	<0.14	-
6	<0.14	-	<0.14	-

18. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 4 samples with known concentration of Etanercept. For each sample serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 0.20-13.0 µg/ml.

19. BIOSIMILARS

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

The data obtained are summarized in the following table:

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Level 1	Level 2	Level 3
Concentration Etanercept Enbrel (µg/mL)	10.4	4.4	0.59
Bias Etanercept Erelzi	2.1	1.1	0.2
Bias Etanercept Benepali	-0.1	0.1	0.0

20. BIBLIOGRAPHY

1. Zhao S, et al. "Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis". Immunotherapy. 2018 Mar 1;10(6):433-445.
2. Jamnitski, A., et al... "Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients". Ann.Rheum.Dis. 2012; 71:88-91.
3. Emi Aikawa, et al. "Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases". Clin Rev.Allergy Immunol. 2010;38:82-89.

4. de Vries, M. et al. "Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis". Ann.Rheum.Dis. 2009; 68:531-535.
5. Dore, R. K., et.al "The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis". Clin.Exp.Rheumatol. 2007; 25:40-46.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. If a serious accident has occurred in connection with this device in the market territory of the European Union, please report it without delay to the manufacturer and the competent authority of your member state.



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. POUŽITÍ

CHORUS Promonitor ETANERCEPT je imunoanalytická souprava pro automatizované kvantitativní stanovení etanerceptu 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 etanerceptem (ETN), jako jsou pacienti s revmatickým onemocněním.

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

2. ÚVOD

Etanercept (ETN) je geneticky modifikovaný dimerní fúzní protein vytvořený z extracelulární domény vázající ligand TNFR2 (receptor pro tumor nekrotizující faktor typu II) na Fc doménu lidského IgG1. ETN váže trimerní prozánětlivé cytokiny TNF α (tumor nekrotizující faktor alfa) a LT α (lymfotoxin alfa), čímž brání vazbě na jejich receptory a následně zánětlivé kaskádě. Lék se používá k léčbě různých zánětlivých onemocnění, jako je revmatoidní artritida (RA), polyartikulární juvenilní idiopatická artritida (AIG), psoriatická artritida (PA), ankylozující spondylitida (AS) a plaková psoriáza (PSO). Etanercept je nejméně imunogenní z anti-TNF α léků. V případě jiných anti-TNF léčeb, jako je infliximab (IFX) a adalimumab (ADL), bylo široce prokázáno, že nízké hladiny léku a tvorba protilátek proti léku (ADA) silně korelují se ztrátou klinické odpovědi u různých onemocnění. Bylo prokázáno, že žádná ze všech zjištěných protilátek proti etanerceptu není neutralizující. Předpokládá se, že protilátky proti etanerceptu cílí na pantovou oblast molekuly, takže neovlivňují vazebnou aktivitu TNF α a klinickou účinnost. Kromě jiných aspektů souvisejících s onemocněním se zdá, že cirkulující hladiny etanerceptu hrají významnou roli v klinické odpovědi.

3. PRINCIP METODY

Nástroj CHORUS Promonitor ETANERCEPT je připraven k použití pro stanovení etanerceptu v lidském séru v zařízení CHORUS TRIO.

Test je založen na sendvičové metodě ELISA.

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

ETN se po inkubaci se vzorkem může vázat na předem imobilizovanou anti-ETN. Po promytí, aby se odstranil nenavázaný vzorek, se přidá anti-ETN protilátka značená HRP (konjugát). Druhá inkubační fáze umožňuje konjugátu se vázat na ETN, který ulpěl na mikrotitračních jamkách.

Po promytí, aby se odstranil nenavázaný konjugát, se přidá substrát pro peroxidázu. Enzymatická reakce se zastaví

přidáním zastavovacího roztoku, který roztok zbarví do žluta. Barva, která se vytvoří, je úměrná množství ETN přítomnému ve vzorku pacienta.

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

Výsledky jsou vyjádřeny v $\mu\text{g/ml}$, vypočítané s odkazem na „WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, Human rDNA derived)“, (kód NIBSC: 13/204)“.

4. VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

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

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

Informace o zdraví a bezpečnosti

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

Opatření pro správné provedení testu

Před použitím nechte vytemperovat sáčky obsahující nástroje na pokojovou teplotu (18–30°C) alespoň po dobu 30 minut. Nástroj použijte do 60 minut.

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 2) zlikvidujte.**

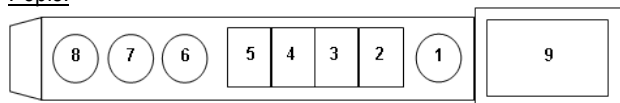
2. Pokud je vzorek přidán do jamky manuálně, zkontrolujte, zda je dokonale rozložen.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagentů v nástroji a neporušenost samotného nástroje; nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.
4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením CHORUS TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku zařízení.
Použití soupravy je možné pouze s CHORUS TRIO s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný na zařízení má verzi (Rel.) odpovídající nebo novější než ta, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz příslušná uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka CHORUS TRIO).
9. Pokud používáte zařízení CHORUS Autosampler (REF 81210), řiďte se příslušnou uživatelskou příručkou.
10. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
11. Nepoužívejte hemolyzované, lipemické a ikterické vzorky s vyšší koncentrací interferenčních látek, než je koncentrace testovaná (podle údajů v kapitole „Analytická specifita“).
12. Nepoužívejte nástroj po uplynutí data použitelnosti.
13. Zkontrolujte, zda je zařízení připojeno k Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 12 stanovení.

DD NÁSTROJE 2 balení po 6 nástrojích v každém balení

Popis:



Pozice 9: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 8: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervační látku

Pozice 7: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Senzitizováno lidskou monoklonální anti-ETN protilátkou (koncentrace 0,5 µg/ml)

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Senzitizováno lidskou monoklonální anti-ETN protilátkou (koncentrace 0,5 µg/ml)

Pozice 5: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0,3 M

Pozice 4: KONJUGÁT

Obsah: HRP-značená anti-ETN protilátka v pufru obsahujícím konzervační látku (koncentrace 0,04 µg/ml)

Pozice 3: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervační látku

Pozice 2: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin v citrátovém pufru

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA, do níž se přidá vzorek z pacienta.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0,650 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující ETN (koncentrace 70 ng/ml) a konzervační látku BND (5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm.

Tekutina připravená k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 1,100 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující ETN (koncentrace 70 ng/ml) a konzervační látku BND (5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm.

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 potenciálně infekční materiál

6. ZPŮSOB SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

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

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

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

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

7. ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Typem vzorku je sérum získané z krve odebrané vpichem do žíly, se kterým bylo nakládáno v souladu se standardními laboratorními postupy.

Podle pokynů NCCLS CLSI H18-A3 musí být vzorky séra určené k analýze před centrifugací koagulovány; spontánní a úplná koagulace obvykle proběhne během 30-60 minut při 22°C-25°C. Doporučuje se fyzicky oddělit sérum centrifugací od kontaktu s buňkami co nejdříve, maximálně však do 2 hodin od odběru. Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 5 dnů při teplotě 2/8 °C. Vzorek je možné rozmrazit maximálně třikrát.

Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním. Rozmražený vzorek je nutné před použitím pečlivě protřepat.

Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Důrazně se doporučuje vyvarovat se jakéhokoli intenzivního zpracování vzorků.

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

8. POSTUP

Test CHORUS Promonitor ETANERCEPT (REF. 86706) 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	130 µl/nástroj
KALIBRÁTOR	130 µl/nástroj
POZITIVNÍ KONTROLA	130 µl/nástroj

Při každé změně šarže použijte nástroj pro kalibrátor.

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

9. VALIDACE TESTU

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

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

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

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Zařízení CHORUS TRIO vyjadřuje výsledky v 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 $\geq 0,14$ µg/ml

NEGATIVNÍ: je-li výsledek $< 0,14$ µg/ml

11. OMEZENÍ

Tento test měří volný ETN. Neměří imunokomplexy vytvořené mezi ETN a anti-ETN protilátkami.

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

Lékař musí interpretovat výsledky v kontextu dalších proměnných, jako je odběrové vzorkovací okno, metodika, hladiny ETN a další klinické výsledky, jako aktivita onemocnění.

Nebyly stanoveny výkonnostní charakteristiky testu na jiných matricích než sérum.

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

12. KALIBRAČNÍ ROZSAH

Kalibrační rozsah: 0,14-13,0 µg/ml

U vzorků $> 13,0$ µg/ml zopakujte test rozředěním vzorku v negativní kontrole/ředidle vzorku (REF 83607 - není součástí soupravy).

13. REFERENČNÍ ROZSAH

Očekávané hodnoty v normální populaci stanovené vyšetřením 120 sér od zdravých dárců jsou negativní s hodnotami $< 0,14$ µg/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

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 (s výjimkou triglyceridů > 750 mg/dl) v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

3 pozitivní vzorky revmatoidního faktoru (RF) 92,6 UI/ml (1) a 100 IU/ml (2) byly doplněny etanerceptem.

Vysoká hladina – 9,0 µg/ml

Nízká hladina – 0,50 µg/ml

Negativní – $< 0,14$ µg/ml

Přítomnost RF v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

Bylo testováno 12 vzorků, které neobsahovaly etanercept, ale obsahovaly různé koncentrace IFX (5,3-24,2 µg/ml) – 7 vzorků a ADL (1,4-29,2 µg/ml) – 5 vzorků.

Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

16. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 171 vzorků pomocí soupravy Diesse a soupravy Promonitor ETN ELISA.

Data jsou shrnuta v následující tabulce.

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	42	0	42
	-	0	129	129
Celkem		42	129	171

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

100,0% IC_{95%}: 91,6-99,9

Procento negativní konkordance (~ diagnostická specifita):

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

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

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

Stupeň konkordance mezi oběma metodami je velmi dobrý s hodnotou K (Cohenův koeficient) rovnou 1,0.

Ze 171 vzorků bylo 42 pozitivních vzorků testováno na korelaci mezi soupravou DIESSE a soupravou Promonitor ETN ELISA.

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

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

Korelace mezi těmito dvěma metodami je velmi vysoká.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	11,7	9,1	9,2	4,3
2	5,8	3,6	4,8	10,8
3	1,0	6,0	1,0	9,4
4	0,56	3,6	0,53	3,8
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	9,9	9,9	8,6	9,2
2	4,7	11,7	4,6	8,5
3	0,91	12,1	0,89	11,2
4	0,71	12,7	0,49	8,2
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

18. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 4 vzorků se známými koncentracemi etanerceptu. Pro každý vzorek byla provedena sériová ředění, která prokázala linearitu metody od 0,20 do 13,0 µg/ml.

19. BIOSIMILARS

Byla provedena studie hodnocení bias s cílem otestovat schopnost nástroje CHORUS Promonitor ETANERCEPT kvantifikovat některé komerčně dostupné biosimilární léky ve srovnání s referenčním lékem (Etanercept Enbre). Získaná data jsou shrnuta v následující tabulce.

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Hladina 1	Hladina 2	Hladina 3
Koncentrace etanercept enbrel (µg/ml)	10,4	4,4	0,59
Bias etanercept erelzi	2,1	1,1	0,2
Bias etanercept benepali	-0,1	0,1	0,0

20. BIBLIOGRAFIE

1. Zhao S, et al. "Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis". Immunotherapy. 2018 Mar 1;10(6):433-445.
2. Jamnitski, A., et al. "Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients". Ann.Rheum.Dis. 2012; 71:88-91.
3. Emi Aikawa, et al. "Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases". Clin Rev.Allergy Immunol. 2010;38:82-89.
4. de Vries, M. et al. "Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis". Ann.Rheum.Dis. 2009; 68:531-535.
5. Dore, R. K., et.al "The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis". Clin.Exp.Rheumatol. 2007; 25:40-46.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍCH UDÁLOSTÍ

Pokud v souvislosti s tímto nástrojem dojde na území Evropské unie k závažné nehodě, neprodleně ji nahláste výrobci a příslušnému orgánu vašeho členského státu.



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

CHORUS Promonitor ETANERCEPT ist ein Immunoassay-Testsatz für die automatisierte quantitative Bestimmung von Etanercept 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 Etanercept (ETN) verabreicht wird, wie z. B. Patienten mit rheumatischen Erkrankungen.

Es darf nur von Laborfachkräften verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Etanercept (ETN) ist ein gentechnisch verändertes, dimeres Fusionsprotein, das durch die extrazelluläre Ligandenbindungsdomäne von TNFR2 (Tumornekrosefaktor-Rezeptor Typ II) an die Fc-Domäne von humanem IgG1 gebildet wird. ETN bindet die trimeren, proinflammatorischen Zytokine TNF α (Tumornekrosefaktor alpha) und LT α (Lymphotoxin alpha), wodurch deren Bindung an ihre Rezeptoren und damit die Entzündungskaskade verhindert wird. Das Arzneimittel wird zur Behandlung verschiedener entzündlicher Erkrankungen, wie rheumatoide Arthritis (RA), polyartikuläre juvenile idiopathische Arthritis (AIG), Psoriasis-Arthritis (PA), ankylosierende Spondylitis (AS) und Plaque-Psoriasis (PSO), angewendet. Etanercept ist der am geringsten immunogene TNF α -Hemmer. Bei anderen Anti-TNF-Therapien, wie Infliximab (IFX) und Adalimumab (ADL) wurde umfassend nachgewiesen, dass niedrige Wirkstoffspiegel und die Bildung von Anti-Wirkstoff-Antikörpern (ADA) stark mit einem Verlust des klinischen Ansprechens bei verschiedenen Erkrankungen korrelieren. Es wurde gezeigt, dass keiner der gefundenen Anti-Etanercept-Antikörper neutralisierend wirkt. Es wird angenommen, dass die Anti-Etanercept-Antikörper auf die Reißverschluss-Region des Moleküls zielen, sodass sie keinen Einfluss auf die Bindungsaktivität von TNF α und die klinische Wirksamkeit haben. Abgesehen von anderen krankheitsbedingten Aspekten, scheint der Etanercept-Spiegel im Blutkreislauf eine wichtige Rolle beim klinischen Ansprechen zu spielen.

3. TESTPRINZIP

Das Testmodul CHORUS Promonitor ETANERCEPT ist gebrauchsfertig für die Bestimmung von Etanercept in Humanserum mithilfe des Laboranalysators CHORUS TRIO. Der Test basiert auf dem Prinzip des Sandwich-ELISA-Verfahrens.

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

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

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

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

Die Ergebnisse werden in $\mu\text{g/ml}$ angegeben und wurden auf Grundlage des „WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, Human rDNA derived), (NIBSC-Code: 13/204)“ berechnet.

4. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

AUSSCHLIESSLICH FÜR DIE *IN-VITRO*-DIAGNOSTIK BESTIMMT

Dieses Kit 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 im Testkit enthaltenen Reagenzien das Sicherheitsdatenblatt beachten (auf der Website von DIESE einsehbar: www.diesse.it).
5. Neutralisierende Säuren und andere flüssige Abfälle müssen durch Zugabe von Natriumhypochlorit desinfiziert werden. Das zugegebene Volumen muss eine Endkonzentration von mindestens 1 % ergeben. Zur Gewährleistung einer wirksamen Desinfektion kann eine 30-minütige Exposition gegenüber 1 % Natriumhypochlorit erforderlich sein.
6. Wird potentiell infektiöses Material versehentlich verschüttet, muss es umgehend mit Saugpapier entfernt

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

Warnhinweise zur Analyse

Vor dem Gebrauch die Beutel mit den Testmodulen mindestens 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (18–30°C) akklimatisieren.

Das Testmodul innerhalb von 60 Minuten verwenden.

1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 2) aussortieren.
2. Bei manuellem Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung achten.
3. Kontrollieren Sie, ob die Reagenzien im Testmodul enthalten sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen, oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem CHORUS TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.
Die Nutzung des Kits ist nur mit CHORUS TRIO und einer aktualisierten Softwareversion möglich. Stellen Sie sicher, dass es sich bei der auf dem Laboranalysator installierten Software um die in der Tabelle auf der Diesse-Website veröffentlichte oder eine höhere Version (Rel.) handelt (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Kontrollieren, ob der CHORUS TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe betreffende Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte verwenden.
8. Eventuelle unlesbare Strichcodes können manuell in den Analysator eingegeben werden (siehe Gebrauchsanleitung des CHORUS TRIO).
9. Wenn das Gerät CHORUS Autosampler (REF. 81210) verwendet wird, ist dessen eigene Gebrauchsanleitung zu befolgen.
10. Die Testmodule während der Aufbewahrung und des Gebrauchs keiner starken Beleuchtung und keinen Natriumhypochlorit-Dämpfen aussetzen.
11. Es dürfen keine hämolytischen, lipämischen oder ikterischen Proben mit einer höheren Konzentration an Störsubstanzen als der getesteten verwendet werden (gemäß den Angaben im Kapitel „Analytische Spezifität“).
12. Das Medizinprodukt nach dem Verfalldatum nicht mehr verwenden.

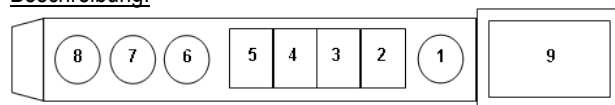
13. Prüfen Sie, ob der Laboranalysator an den Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004) angeschlossen ist.

5. BESTANDTEILE DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Das Kit reicht für 12 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 2 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit humanem, monoklonalem Anti-ETN-Antikörper (Konzentration 0,5 µg/ml)

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Sensibilisiert mit humanem, monoklonalem Anti-ETN-Antikörper (Konzentration 0,5 µg/ml)

Position 5: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 4: KONJUGAT

Inhalt: Anti-ETN-Antikörper, markiert mit HRP in Puffer mit Konservierungsmittel (Konzentration 0,04 µg/ml)

Position 3: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 2: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer

Position 1: LEERE VERTIEFUNG, in welche die Patientenprobe gegeben wird.

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 ETN (Konzentration 70 ng/ml) und Konservierungsmittel BND (5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm.

Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVE KONTROLLE 1 x 1.100 ml

Inhalt: Humanserum mit ETN (Konzentration 70 ng/ml) und Konservierungsmittel BND (5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm.

Flüssig, gebrauchsfertig.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY [REF.] 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 [REF.] 83609
- DESINFektionsLÖSUNG [REF.] 83604
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/RROBENVERDÜNNUNGSMITTE L [REF.] 83607
- CHORUS TRIO Laboranalysator

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

6. AUFBEWAHRUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

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

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

Die Reagenzien besitzen nach dem Öffnen eine begrenzte Stabilität:

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

7. SAMMLUNG UND LAGERUNG VON PROBEN

Die Probe besteht aus Serum, das aus Blut gewonnen wird, das durch eine Venenpunktion entnommen wurde und das entsprechend den für Labors geltenden Standardverfahren gehandhabt wird.

Gemäß NCCLS CLSI Dokument H18-A3 müssen Serumproben für die Analyse vor der Zentrifugation koaguliert werden; die spontane und vollständige Koagulation erfolgt normalerweise innerhalb von 30-60 Minuten bei 22-25°C. Es wird empfohlen, das Serum durch Zentrifugation so schnell wie möglich von den Zellen zu trennen, mit einer maximalen Zeitspanne von 2 Stunden ab dem Zeitpunkt der Entnahme.

Das frische Serum kann bei 2-8 °C fünf Tage lang aufbewahrt werden.

Die Probe kann maximal dreimal aufgetaut werden.

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

Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

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 ETANERCEPT-Test (REF. 86706) darf AUSSCHLIESSLICH mit den anderen CHORUS Promonitor-Tests gleichzeitig 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 Nr. 1 jedes Testmoduls geben:

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

Bei jedem Chargenwechsel ein Testmodul für den Kalibrator verwenden.

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

9. TESTVALIDIERUNG

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

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

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

10. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

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

Der Test des untersuchten Serums kann wie folgt ausgelegt werden:

POSITIV: bei Ergebnis $\geq 0,14$ µg/ml
NEGATIV: bei Ergebnis $< 0,14$ µg/ml

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Mit diesem Assay wird freies ETN gemessen. Nicht gemessen werden die Immunkomplexe, die aus ETN und Anti-ETN-Antikörpern gebildet werden.

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

Der Arzt muss die Ergebnisse unter Berücksichtigung anderer Variablen, wie Probenahmefenster, Methodik, ETN-Konzentration und andere klinische Befunde, wie z. B. die Krankheitsaktivität, interpretieren.

Die Leistungsmerkmale des Assays wurden für keine anderen Matrices außer Serum bestimmt.

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

12. KALIBRIERBEREICH

Kalibrierbereich: 0,14–13,0 µg/ml

Bei Proben mit >13,0 µg/ml den Test wiederholen und die Probe zuvor mit Negativer Kontrolle/Probenverdunnungsmedium (REF. 83607 - nicht im Testsatz enthalten) verdünnen.

13. REFERENZBEREICH

In der Normalbevölkerung sind die Erwartungswerte, die durch die Untersuchung von 120 Seren gesunder Spender ermittelt wurden, negativ mit Werten <0,14 µg/ml.

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 Interferenten im untersuchten Serum hat (mit Ausnahme von Triglyceriden >750 mg/dl) keinen Einfluss auf das Testergebnis.

Zu 3 Rheumafaktor-positiven (RF) Proben (92,6 IE/ml (1) und 100 IE/ml (2)) wurde Etanercept hinzugefügt.

Hoher Spiegel – 9,0 µg/ml

Niedriger Spiegel – 0,50 µg/ml

Negativ – <0,14 µg/ml

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

15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 12 Proben getestet, die kein Etanercept enthielten, sondern in 7 davon verschiedene IFX-Konzentrationen (5,3-24,2 µg/ml) und in 5 davon ADL (1,4-29,2 µg/ml) enthielten.

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHSTUDIEN

In einem Versuch wurden 171 Proben mit dem Diesse-Testsatz und dem Promonitor ETN ELISA-Testsatz getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	42	0	42
	-	0	129	129
	Insgesamt	42	129	171

Positive Übereinstimmungsrate (~diagnostische Sensitivität):

100,0 % KI_{95%}: 91,6-99,9

Negative Übereinstimmungsrate (~diagnostische Spezifität):

100,0 % KI_{95%}: 97,1–100,0

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

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

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

Von den 171 Proben wurde die Korrelation zwischen dem Diesse-Testsatz und dem Promonitor ETN-ELISA-Testsatz an 42 positiven Proben getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

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

Die Korrelation zwischen den beiden Methoden ist sehr hoch.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (µg/ml)	VK%	Mittelwert (µg/ml)	VK%
1	11,7	9,1	9,2	4,3
2	5,8	3,6	4,8	10,8
3	1,0	6,0	1,0	9,4
4	0,56	3,6	0,53	3,8
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (µg/ml)	VK%	Mittelwert (µg/ml)	VK%
1	9,9	9,9	8,6	9,2
2	4,7	11,7	4,6	8,5
3	0,91	12,1	0,89	11,2
4	0,71	12,7	0,49	8,2
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

18. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 4 Proben mit bekannten Konzentrationen von Etanercept bewertet. Für jede Probe wurden Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 0,20 bis 13,0 µg/ml nachgewiesen wurde.

19. BIOSIMILARS

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

Die erhaltenen Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Level 1	Level 2	Level 3
Konzentration Etanercept Enbrel (µg/ml)	10,4	4,4	0,59
Bias Etanercept Erelzi	2,1	1,1	0,2
Bias Etanercept Benepali	-0,1	0,1	0,0

20. LITERATUR

- Zhao S, et al. "Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis". Immunotherapy. 2018 Mar 1;10(6):433-445.
- Jamnitski, A., et al... "Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients". Ann.Rheum.Dis. 2012; 71:88-91.
- Emi Aikawa, et al. "Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases". Clin. Rev. Allergy Immunol. 2010;38:82-89.

4. De Vries, M. et al. "Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis". *Ann.Rheum.Dis.* 2009; 68:531-535.
5. Dore, R. K., et.al "The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis". *Clin.Exp.Rheumatol.* 2007; 25:40-46.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. MELDUNG VON VORKOMMNISEN

Wenn ein schwerwiegendes Vorkommnis im Zusammenhang mit diesem Medizinprodukt auf dem Gebiet der Europäischen Union aufgetreten ist, informieren Sie bitte unverzüglich den Hersteller und die zuständige Behörde des betroffenen Mitgliedstaats.



INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

CHORUS Promonitor ETANERCEPT es un kit de inmunoensayo para la determinación cuantitativa automatizada de Etanercept 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 Etanercept (ETN), como los pacientes con enfermedades reumáticas. Para uso exclusivo de técnicos de laboratorio profesionales.

2. INTRODUCCIÓN

Etanercept (ETN) es una proteína de fusión dimérica modificada genéticamente y formada a partir del dominio de unión del ligando extracelular de TNFR2 (receptor del factor de necrosis tumoral de tipo II) al dominio Fc de la IgG1 humana. ETN se une a las citocinas proinflamatorias triméricas TNF α (factor de necrosis tumoral alfa) y LT α (linfotóxina alfa), impidiendo la unión a sus receptores y, en consecuencia, la cascada inflamatoria. El medicamento se usa para tratar varias enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide (AR), la artritis idiopática juvenil poliarticular (AIJ), la artritis psoriásica (AP), la espondilitis anquilosante (EA) y la psoriasis en placas (PsO). Etanercept es el menos inmunogénico de los fármacos anti-TNF α . En el caso de otros tratamientos anti-TNF, como infliximab (IFX) y adalimumab (ADL), se ha demostrado ampliamente que los niveles bajos del fármaco y la formación de anticuerpos antifármaco (ADA) están fuertemente correlacionados con una pérdida de respuesta clínica en distintas patologías. Se ha demostrado que todos los anticuerpos anti-etanercept detectados no son neutralizantes. Se cree que los anticuerpos anti-etanercept se dirigen a la región bisagra de la molécula, por lo que no afectan a la actividad de unión del TNF α ni la eficacia clínica. Aparte de otros aspectos relacionados con la enfermedad, los niveles circulantes de etanercept parecen desempeñar un papel relevante en la respuesta clínica.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

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

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

El ETN puede unirse al anti-ETN preinmovilizado tras la incubación con la muestra. Tras el lavado para eliminar la

muestra no unida, se añade un anticuerpo anti-ETN marcado con HRP (conjugado). Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una al ETN que se ha adherido a los pocillos de la microplaca.

Tras el lavado para eliminar el conjugado que no se ha unido, se añade el sustrato para peroxidasa. La reacción enzimática se detiene añadiendo la solución inhibidora, que hace que la solución adquiera un color amarillo. El color que aparece es proporcional a la cantidad de ETN 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 en referencia al «WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, Human rDNA derived), (código NIBSC: 13/204)».

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 en el sitio web de DIESSE: www.diesse.it).
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 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. Usar el dispositivo en los 60 minutos siguientes.

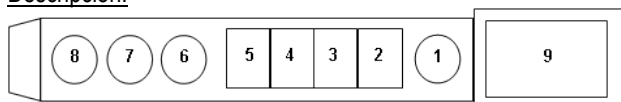
1. **Descartar los dispositivos con sustrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Si se añade la muestra al pocillo manualmente, comprobar que esté distribuida perfectamente.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la ausencia de algún reactivo o la presencia de cuerpos extraños en el pocillo de reacción cuando se inspeccionan visualmente.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo CHORUS TRIO, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario del equipo.
El kit solo se puede utilizar con CHORUS TRIO con una versión actualizada del software. Asegurarse de que la versión (Rel.) del software instalado en el equipo coincida o sea superior a la que se indica en la tabla que se puede consultar en el sitio web de Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Comprobar que el equipo CHORUS TRIO se ha configurado de manera correcta (ver el Manual del Usuario).
6. No alterar el código de barras de la empuñadura del producto para asegurarse de que el equipo pueda leerlo correctamente.
7. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras.
8. Los códigos de barras defectuosos se pueden introducir de forma manual en el equipo (ver el Manual del Usuario del equipo CHORUS TRIO).
9. Si se utiliza el instrumento CHORUS Autosampler (REF. 81210), consultar el manual de usuario correspondiente.
10. No exponer los dispositivos a iluminación intensa ni a vapores de hipoclorito durante la conservación y el uso.
11. No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas ni ictericas con una concentración de interferentes superior a la probada (ver las indicaciones que figuran en el capítulo «Especificidad analítica»).
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 12 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 2 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

Sensibilizado con anticuerpo monoclonal humano anti-ETN (concentración de 0,5 µg/ml)

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con anticuerpo monoclonal humano anti-ETN (concentración de 0,5 µg/ml)

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M.

Posición 4: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpo anti-ETN marcado con HRP en tampón que contiene conservante (concentración de 0,04 µg/ml)

Posición 3: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

Posición 2: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina en tampón citrato.

Posición 1: POCILLO VACÍO donde se debe añadir la muestra del paciente.

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 ETN (concentración 70 ng/ml) y conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano) 1000-1150 ppm.

Líquido, listo para el uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 1,100 ml

Contenido: Suero humano que contiene ETN (concentración 70 ng/ml) y conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano) 1000-1150 ppm.

Líquido, listo para el uso.

OTRO MATERIAL NECESARIO, PERO NO SUMINISTRADO

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

6. MODO DE CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

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

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

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

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

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

7. RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

El tipo de muestra consiste en suero obtenido de sangre extraída por punción venosa y debe manipularse de acuerdo con los procedimientos estándar de laboratorio.

De acuerdo con la directriz NCCLS CLSI H18-A3, las muestras de suero que se van a analizar deben coagularse antes de la centrifugación; la coagulación espontánea y completa normalmente se produce en 30-60 minutos a 22-25 °C. Se recomienda separar físicamente el suero, por centrifugación, del contacto con las células lo antes posible con un límite de tiempo máximo de 2 horas desde el momento de la recogida.

El suero fresco se puede conservar a 2/8 °C durante 5 días.

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces.

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

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

Se recomienda encarecidamente evitar cualquier procesamiento agresivo de las muestras.

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

8. PROCEDIMIENTO

La prueba CHORUS Promonitor ETANERCEPT (REF. 86706) se puede realizar simultáneamente SOLO con otras pruebas CHORUS Promonitor.

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

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

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

4. Introducir los dispositivos en el equipo CHORUS TRIO. Realizar la calibración (si se requiere) y la prueba como se indica en el Manual del Usuario del equipo

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

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

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

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

10. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO: cuando el resultado es $\geq 0,14$ µg/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es $< 0,14$ µg/ml

11. LIMITACIONES

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

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

El médico debe interpretar los resultados teniendo en cuenta otras variables como la ventana de muestreo, la metodología, los niveles de ETN y otros resultados clínicos como la actividad de la enfermedad.

Las características de rendimiento del ensayo no se han establecido para matrices distintas del suero.

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

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración: 0,14-13,0 µg/ml

Para las muestras $> 13,0$ µg/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

13. RANGO DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante el análisis de 120 sueros de donantes sanos, son negativos con valores $< 0,14$ 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 no altera el resultado de la prueba, a excepción de los triglicéridos > 750 mg/dl.

Se añadió Etanercept a 3 muestras Factor Reumatoide (FR) positivas (92,6 UI/ml [1] y 100 UI/ml [2]).

Nivel alto – 9,0 µg/ml
Nivel bajo – 0,50 µg/ml
Negativo – <0,14 µg/ml

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

15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 12 muestras que no contenían Etanercept pero que contenían distintas concentraciones de IFX (5,3-24,2 µg/ml) – 7 muestras y ADL (1,4-29,2 µg/ml) – 5 muestras.

No se encontraron reacciones cruzadas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba, se analizaron 171 muestras con el kit DIESSE y con el kit Promonitor ETN ELISA.

Los datos se resumen en la siguiente tabla.

		Referencia		
		+	-	Total
DIESSE	+	42	0	42
	-	0	129	129
	Total	42	129	171

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

100,0 % IC_{95%}: 91,6-99,9

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

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

Valor predictivo positivo (VPP): 100,0 % IC_{95%}: 100,0-100,0

Valor predictivo negativo (VPN): 100,0 % IC_{95%}: 100,0-100,0

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

De las 171 muestras, se probó en 42 muestras positivas la correlación entre el kit DIESSE y el kit Promonitor ETN ELISA.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

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

La correlación entre los dos métodos es muy alta.

17. PRECISIÓN Y REPRODUCIBILIDAD

Muestra	Intraensayo		Interensayo	
	Media (µg/ml)	CV %	Media (µg/ml)	CV %
1	11,7	9,1	9,2	4,3
2	5,8	3,6	4,8	10,8
3	1,0	6,0	1,0	9,4
4	0,56	3,6	0,53	3,8
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (µg/ml)	CV %	Media (µg/ml)	CV %
1	9,9	9,9	8,6	9,2
2	4,7	11,7	4,6	8,5
3	0,91	12,1	0,89	11,2
4	0,71	12,7	0,49	8,2
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

18. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 4 muestras con concentraciones conocidas de Etanercept. Se realizaron diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 0,20 a 13,0 µg/ml.

19. BIOSIMILARES

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

Los datos obtenidos se resumen en la siguiente tabla.

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Level 1	Level 2	Level 3
Concentración de Etanercept Enbrel (µg/ml)	10,4	4,4	0,59
Bias Etanercept Erelzi	2,1	1,1	0,2
Bias Etanercept Benepali	-0,1	0,1	0,0

20. BIBLIOGRAFÍA

- Zhao S, et al. «Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis». Immunotherapy. 2018 Mar 1;10(6):433-445.
- Jamnitski, A., et al... «Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients». Ann.Rheum.Dis. 2012; 71:88-91.
- Emi Aikawa, et al. «Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases». Clin Rev.Allergy Immunol. 2010;38:82-89.
- de Vries, M. et al. «Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis». Ann.Rheum.Dis. 2009; 68:531-535.
- Dore, R. K., et.al «The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis». Clin.Exp.Rheumatol. 2007; 25:40-46.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

Si se ha producido un incidente grave en relación con este dispositivo en el territorio de la Unión Europea, rogamos lo comunique sin demora al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.



MODE D'EMPLOI

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

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

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

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

2. INTRODUCTION

Etanercept est un dimère d'une protéine chimère génétiquement modifiée qui a été obtenue en fusionnant le domaine de liaison extracellulaire du récepteur 2 humain au facteur nécrosant des tumeurs (TNFR2/p75) et le domaine Fc de l'IgG1 humaine. L'ETN se lie aux cytokines pro-inflammatoires trimères TNF α (facteur de nécrose tumorale α) et LT α (lymphotoxine α), empêchant ainsi la liaison à leurs récepteurs et par conséquent la cascade inflammatoire. Le médicament est utilisé pour traiter plusieurs maladies inflammatoires telles que la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'arthrite juvénile idiopathique polyarticulaire (AJI), l'arthrite psoriasique (AP), la spondylarthrite ankylosante (SA) et le psoriasis en plaques (PSO). Etanercept est le moins immunogène des médicaments anti-TNF α . Dans le cas d'autres traitements anti-TNF tels que l'infliximab (IFX) et l'adalimumab (ADL), il a été largement démontré que de faibles taux de médicament et la formation d'anticorps anti-médicament (ADA) sont fortement corrélés à une perte de réponse clinique dans différentes pathologies. Tous les anticorps anti-Etanercept détectés se sont révélés non neutralisants. On pense que les anticorps anti-Etanercept ciblent la région charnière de la molécule, n'affectant ainsi pas l'activité de liaison du TNF α ni l'efficacité clinique. Outre d'autres aspects liés à la maladie, le taux d'Etanercept circulant semble jouer un rôle important dans la réponse clinique.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS Promonitor ETANERCEPT est prêt à l'emploi pour la détermination de la présence d'ETANERCEPT dans le sérum humain, en utilisant l'instrument CHORUS TRIO. Le test est basé sur une méthode ELISA de type sandwich.

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

L'ETN est en mesure de se lier à l'anti-ETN pré-immobilisé après incubation avec l'échantillon. Après lavage pour éliminer l'échantillon non lié, un anticorps anti-ETN marqué avec HRP (conjugué) est ajouté. Une deuxième phase d'incubation permet

au conjugué de se lier à l'ETN qui a adhéré aux puits de la microplaque.

Après lavage pour éliminer le conjugué non lié, le substrat pour la peroxydase est ajouté. La réaction enzymatique est stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt, ce qui fait virer la solution au jaune. La couleur qui se développe est proportionnelle à la quantité d'ETN présente dans l'échantillon du patient.

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs nécessaires 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 « WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, dérivé de rDNA humain), (code NIBSC : 13/204) ».

4. MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

UNIQUEMENT POUR LE DIAGNOSTIC *IN VITRO*

Ce kit contient des matières d'origine humaine qui ont été testées et ont fourni une réponse négative quant à la présence de HBsAg et d'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 matière d'origine humaine.

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

Informations sur la santé et la sécurité

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
3. Se laver soigneusement les mains une fois les dispositifs introduits dans l'appareil CHORUS TRIO.
4. Consulter la Fiche de Sécurité (disponible sur le site DIESSE : www.diesse.it) 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 un volume suffisant d'hypochlorite de sodium pour atteindre une concentration finale d'au moins 1 %. Une exposition de 30 minutes à l'hypochlorite de sodium à 1 % 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 à 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 (y compris les gants), utilisé pour décontaminer les zones souillées par d'éventuels déversements, doit être éliminé comme un déchet potentiellement infecté. Ne pas mettre en autoclave du matériel contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant utilisation, amener les sachets contenant les dispositifs à utiliser à température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes.

Utiliser le dispositif dans les 60 minutes.

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

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

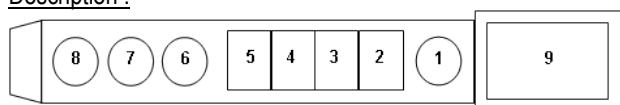
5. S'assurer que l'analyseur CHORUS TRIO est correctement réglé (voir le Manuel d'utilisation correspondant).
6. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif afin que l'analyseur puisse le lire correctement.
7. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons.
8. Tout code à barres défectueux peut être saisi manuellement dans l'analyseur (voir le manuel d'utilisation du CHORUS TRIO).
9. En cas d'utilisation de l'analyseur CHORUS Autosampler (RÉF 81210), se reporter au manuel d'utilisation correspondant.
10. Ne pas exposer les dispositifs à un éclairage violent ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'utilisation.
11. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques, ictériques avec une concentration en interférents supérieure à celle testée (selon les indications données dans le chapitre « Spécificité analytique »).
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 12 déterminations.

DD DISPOSITIFS 2 boîtes contenant 6 dispositifs chacune

Description :



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

Position 8 : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

Position 7 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Sensibilisé avec un anticorps monoclonal humain anti-ETN (concentration de 0,5 µg/mL)

Position 6 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Sensibilisé avec un anticorps monoclonal humain anti-ETN (concentration de 0,5 µg/mL)

Position 5 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 4 : CONJUGUÉ

Contenu : Anticorps anti-ETN marqué à la HRP dans un tampon contenant un conservateur (concentration de 0,04 µg/mL)

Position 3 : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

Position 2 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine dans un tampon citrate

Position 1 : PUIITS VIDE dans lequel ajouter l'échantillon du patient.

Utilisation : porter un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires et replacer ceux qui ne sont pas utilisés dans le sachet contenant le gel de silice ; chasser l'air et **fermer hermétiquement** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver entre 2 et 8 °C.

CALIBRATOR CALIBREUR

1 x 0,650 ml

Contenu : Sérum humain contenant de l'ETN (concentration 70 ng/mL) et du conservateur BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 1,100 ml

Contenu : Sérum humain contenant de l'ETN (concentration 70 ng/mL) et du conservateur BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.

Liquide, prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

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

6. MODE DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

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

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

Les réactifs présentent une stabilité limitée après ouverture :

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

7. COLLECTE ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Le type d'échantillon est représenté par du sérum préparé à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et manipulés selon les procédures standard de laboratoire.

Selon la directive NCCLS CLSI H18-A3, les échantillons de sérum à analyser doivent être coagulés avant la centrifugation ; la coagulation spontanée et complète se produit normalement dans les 30 à 60 minutes à 22-25 °C. Il est recommandé de séparer physiquement le sérum, par centrifugation, du contact avec les cellules dès que possible et dans un temps maximum de 2 heures à compter du prélèvement.

Le sérum frais peut être conservé pendant 5 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C.

L'échantillon peut être décongelé jusqu'à un maximum de 3 fois. Ne pas utiliser de congélateurs à dégivrage automatique pour la conservation des échantillons. Après décongelation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

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

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 ETANERCEPT (RÉF. 86706) peut UNIQUEMENT être exécuté simultanément à d'autres tests CHORUS Promonitor.

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

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

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

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

9. VALIDATION DU TEST

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

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

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

Tél. : 0039 0577 319554
Fax : 0039 0577 366605
E-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

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

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

POSITIF : lorsque le résultat est $\geq 0,14$ µg/ml

NÉGATIF : lorsque le résultat est $< 0,14$ µg/ml

11. LIMITES

Ce dosage mesure l'ETN libre. Il ne mesure pas les immunocomplexes formés entre ETN et les anticorps anti-ETN. Toutes les valeurs obtenues nécessitent une interprétation prudente qui doit tenir compte d'autres indicateurs relatifs au patient.

Le médecin doit interpréter les résultats dans le contexte d'autres variables telles que la fenêtre d'échantillonnage, la méthodologie, les niveaux d'ETN et d'autres résultats cliniques tels que l'activité de la maladie.

Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été déterminées pour des matrices autres que le sérum.

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

12. PLAGE DE CALIBRAGE

Plage de calibrage : 0,14-13,0 µg/ml

Pour les échantillons $>13,0$ µg/ml, répéter le test en diluant l'échantillon dans un diluant de contrôle négatif/échantillon (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 $< 0,14$ µg/ml.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

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

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

La présence dans le sérum examiné de substances interférentes indiquées ci-dessus (à l'exception de triglycérides > 750 mg/dl) n'altère pas le résultat du test.

Etanercept a été ajouté dans 3 échantillons facteur rhumatoïde (FR) positifs (92.6 UI/ml [1] et 100 UI/ml [2]).

Niveau élevé - 9,0 µg/ml
Niveau bas - 0,50 µg/ml
Négatif - < 0,14 µg/ml

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

15. RÉACTIONS CROISÉES

12 échantillons ne contenant pas d'Etanercept mais contenant différentes concentrations d'IFX (5,3-24,2 µg/ml) – 7 échantillons et d'ADL (1,4-29,2 µg/ml) – 5 échantillons, ont été testés. Aucune réaction croisée n'a été observée.

16. ÉTUDES COMPARATIVES

Lors d'un essai, 171 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec le kit Promonitor ETN ELISA.

Les données sont résumées dans le tableau suivant.

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	42	0	42
	-	0	129	129
	Total	42	129	171

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) :

100,0% IC₉₅ % : 91,6-99,9

Taux de concordance négative (~ spécificité diagnostique) :

100,0% IC₉₅ % : 97,1-100,0

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

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

Le degré de concordance entre les deux méthodes est optimal avec un coefficient K (coefficient de Cohen) de 1,0.

Sur les 171 échantillons, la corrélation entre le kit Diesse et le kit Promonitor ELISA a été testée sur 42 échantillons positifs.

Les données figurent dans le tableau suivant :

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

La corrélation entre les deux méthodes est très élevée.

17. PRÉCISION ET REPRODUCTIBILITÉ

Échantillon	Lors de la séance		Entre les séances	
	Moyenne (µg/ml)	CV%	Moyenne (µg/ml)	CV%
1	11,7	9,1	9,2	4,3
2	5,8	3,6	4,8	10,8
3	1,0	6,0	1,0	9,4
4	0,56	3,6	0,53	3,8
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne (µg/ml)	CV%	Moyenne (µg/ml)	CV%
1	9,9	9,9	8,6	9,2
2	4,7	11,7	4,6	8,5
3	0,91	12,1	0,89	11,2
4	0,71	12,7	0,49	8,2
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

18. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée en utilisant 4 échantillons avec des concentrations connues d'Etanercept. Des dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, ce qui a démontré la linéarité de la méthode de 0,20 à 13,0 µg/ml.

19. BIOSIMILAIRES

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

Les données obtenues figurent dans le tableau suivant.

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Concentration d'Etanercept Enbrel (µg/mL)	10,4	4,4	0,59
Biais Etanercept Erelzi	2,1	1,1	0,2
Biais Etanercept Benepali	-0,1	0,1	0,0

20. BIBLIOGRAPHIE

1. Zhao S, et al. « Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis ». Immunotherapy. 2018 Mar 1 ;10(6):433-445.
2. Jamnitski, A., et al... « Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients ». Ann.Rheum.Dis. 2012 ; 71:88-91.
3. Emi Aikawa, et al. « Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases ». Clin Rev.Allergy Immunol. 2010 ;38:82-89.
4. de Vries, M. et al. « Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis ». Ann.Rheum.Dis. 2009 ; 68:531-535.
5. Dore, R. K., et.al « The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis ». Clin.Exp.Rheumatol. 2007 ; 25:40-46.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. RAPPORT D'INCIDENT

En cas de survenue d'un incident grave en relation avec ce dispositif sur le territoire du marché de l'Union Européenne, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de son propre État membre.



INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor ETANERCEPT

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

CHORUS Promonitor ETANERCEPT é um kit de imunoensaio para a determinação quantitativa automatizada de Etanercept em soro humano com um dispositivo de utilização única ligado ao instrumento CHORUS TRIO.

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

Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

O etanercept (ETN) é uma proteína de fusão dimérica geneticamente modificada formada a partir do domínio de ligação do ligando extracelular do TNFR2 (receptor do fator de necrose tumoral tipo 2) ao domínio Fc da IgG1 humana. A ETN liga as citocinas pró-inflamatórias triméricas TNF α (fator de necrose tumoral alfa) e as LT α (linfotóxina alfa), impedindo a ligação aos seus receptores e, consequentemente, a cascata inflamatória. O medicamento é utilizado no tratamento de várias doenças inflamatórias, como a artrite reumatoide (AR), a artrite idiopática juvenil (AIJ) poliarticular, a artrite psoriática (AP), a espondilite anquilosante (EA) e a psoríase (PSO) em placas. O etanercept é o menos imunogénico dos fármacos anti-TNF α . No caso de outros tratamentos anti-TNF, como o infliximab (IFX) e o adalimumab (ADL), foi amplamente demonstrado que os níveis baixos do medicamento e a formação de anticorpos anti-fármaco (ADA) estão fortemente correlacionados com a perda de resposta clínica em várias doenças. Foi demonstrado que todos os anticorpos anti-etanercept detetados não são neutralizantes. Pensa-se que os anticorpos anti-etanercept são dirigidos à região de charneira da molécula, não tendo assim impacto na atividade de ligação do TNF α e na eficácia clínica. Além de outros aspetos relacionados com a doença, os níveis circulantes de etanercept parecem desempenhar um papel relevante na resposta clínica.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

O teste é baseado num método ELISA em sanduíche.

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

A ETN é capaz de se ligar ao anti-ETN pré-imobilizado após a incubação com a amostra. Após a lavagem para remover a amostra não ligada, é adicionado um anticorpo anti-ETN

marcado com HRP (conjugado). Uma segunda fase de incubação permite que o conjugado se ligue ao ETN que aderiu aos poços da microplaca.

Após a lavagem para remover o conjugado não ligado, é adicionado substrato para a peroxidase. A reação enzimática é interrompida pela adição da solução de paragem, que torna a solução amarela. A cor que se desenvolve é proporcional à quantidade de ETN 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 "WHO 1st International Standard for TNF receptor II Fc fusion protein (Etanercept, Human rDNA derived), (código NIBSC: 13/204)".

4. ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

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

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

Informação sobre saúde e segurança

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

Advertências analíticas

Antes da utilização, levar os invólucros com os dispositivos a utilizar até à temperatura ambiente (18-30 °C) durante pelo menos 30 minutos.

Utilizar o dispositivo dentro de 60 minutos.

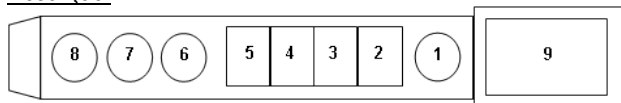
1. **Eliminar os dispositivos com substrato (poço 2) azul.**
2. Se a amostra for adicionada ao poço manualmente, verificar que esteja perfeitamente distribuída.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo; não utilizar dispositivos que, após verificação visual, revelem ausência de algum reagente e/ou presença de objetos estranhos no poço de reação.
4. Os dispositivos devem ser utilizados juntamente com o instrumento CHORUS TRIO, seguindo escrupulosamente as Instruções de Utilização e o Manual do Utilizador do instrumento.
O kit só pode ser utilizado com CHORUS TRIO com uma versão atualizada do software. Assegurar que o software instalado no instrumento é uma versão (Rel.) correspondente ou posterior à apresentada na tabela publicada no website da Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)
5. Certificar-se de que o instrumento CHORUS TRIO está bem configurado (ver respetivo Manual do Utilizador).
6. Não alterar o código de barras aplicado na pega do dispositivo, para que o instrumento o possa ler corretamente.
7. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras defeituosos poderão ser introduzidos no instrumento manualmente (ver Manual do Utilizador do CHORUS TRIO).
9. Ao utilizar o instrumento CHORUS Autosampler (REF 81210), consultar o respetivo Manual do Utilizador.
10. Não expor os dispositivos a iluminação forte nem a vapores de hipoclorito durante a conservação e o uso.
11. Não utilizar amostras hemolisadas, lipémicas, ictericas com maior concentração de interferentes do que as testadas (de acordo com as indicações do capítulo "Especificidade analítica").
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 12 determinações.

DD DISPOSITIVOS 2 embalagens com 6 dispositivos cada uma

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

Sensibilizado com anticorpo monoclonal humano anti-ETN (concentração 0,5 µg/mL)

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Sensibilizado com anticorpo monoclonal humano anti-ETN (concentração 0,5 µg/mL)

Posição 5: SOLUÇÃO DE PARAGEM

Conteúdo: solução de ácido sulfúrico a 0,3 M

Posição 4: CONJUGADO

Conteúdo: Anticorpo anti-ETN marcado com HRP em tampão com conservante (concentração 0,04 µg/mL)

Posição 3: TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

Posição 2: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina em tampão citrato

Posição 1: POÇO VAZIO onde adicionar a amostra do doente.

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 ETN (concentração 70 ng/mL) e conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano) 1000-1150 ppm.

Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO 1 x 1.100 ml

Conteúdo: Soro humano que contém ETN (concentração 70 ng/mL) e conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano) 1000-1150 ppm.

Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

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

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

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

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

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

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

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

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 os procedimentos laboratoriais normalizados.

De acordo com as linhas de orientação NCCLS CLSI H18-A3, as amostras de soro para análise devem ser coaguladas antes da centrifugação; a coagulação espontânea e completa ocorre normalmente dentro de 30-60 minutos a 22 °C-25 °C. Recomenda-se separar fisicamente o soro, por centrifugação, do contacto com as células o mais cedo possível, com um limite máximo de 2 horas a partir do momento da colheita.

O soro fresco pode ser conservado durante 5 dias entre 2 e 8 °C.

A amostra pode ser descongelada até um máximo de 3 vezes. Evitar o uso de congeladores no frost para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar a amostra com cuidado antes da dosagem.

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

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 ETANERCEPT (REF. 86706) pode ser realizado simultaneamente SOMENTE com os outros testes CHORUS Promonitor.

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

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

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

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO: quando o resultado for $\geq 0,14$ µg/ml

NEGATIVO: quando o resultado for $< 0,14$ µg/ml

11. LIMITAÇÕES

Este ensaio mede ETN livre. Não mede os complexos imunitários formados entre ETN e os anticorpos anti-ETN.

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

O médico deve interpretar os resultados do teste no contexto de outras variáveis tais como janela de amostragem, metodologia, níveis de ETN e outros resultados clínicos tais como a atividade da doença.

As características de desempenho do ensaio não foram determinadas para outras matrizes para além do soro.

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

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração: 0.14-13.0 µg/ml

Para amostras $> 13,0$ µg/ml repetir o teste diluindo a amostra com Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - não fornecido com o kit).

13. INTERVALO DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados pelo exame de 120 soros de doadores saudáveis são negativos, com valores $< 0,14$ 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 referidas no soro examinado (com a exceção de Triglicéridos > 750 mg/dl) não altera o resultado do teste.

Às 3 amostras positivas de Fator Reumatóide (RF) (92.6 IU/ml (1) e 100 IU/ml (2)) foi adicionado Etanercept.

Nível elevado - 9,0 µg/ml

Nível Baixo - 0,50 µg/ml

Negativo - < 0.14 µg/ml

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

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram testadas 12 amostras que não continham Etanercept mas várias concentrações de IFX (5,3-24,2 µg/ml) - 7 amostras e ADL (1,4-29,2 µg/ml) - 5 amostras.

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experimentação foram analisadas 171 amostras com o kit Diesse e com o kit Promonitor ETN ELISA.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte.

		Referência		
		+	-	Total
	Diesse	42	0	42
	-	0	129	129
	Total	42	129	171

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

100.0% IC_{95%}: 91,6-99,9

Percentagem de concordância negativa (~ especificidade diagnóstica):

100.0% IC_{95%}: 97,1-100,0

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

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

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

Das 171 amostras, em 42 amostras positivas foi testada a correlação entre o kit Diesse e o kit Promonitor ETN ELISA.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

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

A correlação entre os dois métodos é muito elevada.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	11,7	9,1	9,2	4,3
2	5,8	3,6	4,8	10,8
3	1,0	6,0	1,0	9,4
4	0,56	3,6	0,53	3,8
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	9,9	9,9	8,6	9,2
2	4,7	11,7	4,6	8,5
3	0,91	12,1	0,89	11,2
4	0,71	12,7	0,49	8,2
5	<0,14	-	<0,14	-
6	<0,14	-	<0,14	-

18. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 4 amostras com concentrações conhecidas de Etanercept. Foram realizadas diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 0,20 a 13,0 AU/ml.

19. BIOSIMILARES

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

Os dados obtidos estão resumidos na tabela a seguir.

	CHORUS Promonitor ETANERCEPT		
	Level 1	Level 2	Level 3
Concentração Etanercept Enbrel (µg/mL)	10,4	4,4	0,59
Enviesamento Etanercept Erelzi	2,1	1,1	0,2
Enviesamento Etanercept Benepali	-0,1	0,1	0,0

20. BIBLIOGRAFIA

1. Zhao S, et al. "Etanercept for the treatment of rheumatoid arthritis". Immunotherapy. 2018 Mar 1;10(6):433-445.
2. Jamnitski, A., et al... "Patients non-responding to etanercept obtain lower etanercept concentrations compared with responding patients". Ann.Rheum.Dis. 2012; 71:88-91.
3. Emi Aikawa, et al. "Immunogenicity of Anti-TNF-alpha agents in autoimmune diseases". Clin Rev.Allergy Immunol. 2010;38:82-89.
4. de Vries, M. et al. "Immunogenicity does not influence treatment with etanercept in patients with ankylosing spondylitis". Ann.Rheum.Dis. 2009; 68:531-535.
5. Dore, R. K., et.al "The immunogenicity, safety, and efficacy of etanercept liquid administered once weekly in patients with rheumatoid arthritis". Clin.Exp.Rheumatol. 2007; 25:40-46.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38.

21. COMUNICAÇÃO DE INCIDENTES

Se tiver ocorrido um acidente grave relacionado com este dispositivo no território de mercado da União Europeia, agradecemos que seja comunicado sem demora ao fabricante e à autoridade competente do Estado Membro.

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