

**CHORUS
Promonitor
USTEKINUMAB**

REF 86712



DIESSE

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



ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS Promonitor USTEKINUMAB

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. DESTINAZIONE D'USO

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

Deve essere utilizzato esclusivamente da tecnici di laboratorio professionisti.

2. INTRODUZIONE

Ustekinumab (UTK) è un anticorpo monoclonale IgG1 kappa completamente umano che si lega con alta affinità alla subunità p40 dell'interleuchina umana (IL) 12 e IL23 ed è stato approvato per il trattamento di pazienti con malattia di Crohn da moderata a grave (CD), colite ulcerosa (CU) da moderata a grave, artrite psoriasica e psoriasi a placche. Il farmaco previene la bioattività di IL12 e IL23 legando e neutralizzando la subunità p40 condivisa, prevenendo l'interazione con la proteina recettore della superficie cellulare IL12Rbeta1. Nel contesto delle malattie infiammatorie intestinali (IBD), MC e UC, il regime di trattamento è iniziato con una singola dose di carico e un regime di mantenimento con somministrazione sottocutanea standard ogni 8 settimane. Studi clinici dimostrano che dal 2,9% al 12,4% dei pazienti sviluppano nel tempo anticorpi anti-Ustekinumab (ATU). Pertanto, è importante monitorare le concentrazioni minime di UTK sieriche per correlare i livelli di farmaco con la perdita di risposta alla terapia e la comparsa di eventi avversi come malattia da siero e reazioni di ipersensibilità. Attualmente, la quantificazione di Ustekinumab viene eseguita insieme alla valutazione dell'immunogenicità per l'ATU.

3. PRINCIPIO DEL METODO

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

Il test si basa su un metodo ELISA a ponte.

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

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

4. 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 i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) per almeno 30 minuti e impiegare entro 60 minuti.

1. **Scartare i dispositivi con substrato (pozzetto 2) colorato di blu.**

2. Se il campione è aggiunto al pozzetto manualmente verificare che sia perfettamente distribuito.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento CHORUS TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'uso e il Manuale utente dello strumento.

L'utilizzo del kit è possibile solo con CHORUS TRIO con una versione aggiornata del software. Assicurarsi che il software installato sullo strumento sia una versione (Rel.) corrispondente o successiva a quella riportata nella tabella pubblicata sul sito Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento39/>)

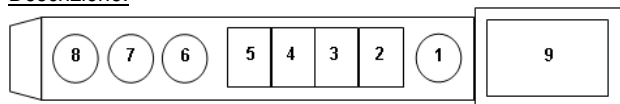
5. Controllare che lo strumento CHORUS TRIO sia impostato correttamente (vedi il relativo Manuale utente).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del dispositivo al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Eventuali codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale utente del CHORUS TRIO).
9. In caso di utilizzo dello strumento CHORUS Autosampler (REF 81210), riferirsi al relativo Manuale utente.
10. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
11. 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 36 determinazioni.

DD DISPOSITIVI 6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna

Descrizione:



Posizione 9: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 8: TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

Posizione 7: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con anticorpo monoclonale umano anti-UTK 0.5 µg/mL

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Rivestito con anticorpo monoclonale umano anti-UTK 0.5 µg/mL

Posizione 5: SOLUZIONE DI ARRESTO

Contenuto: soluzione di acido solforico 0.3 M

Posizione 4: CONIUGATO

Contenuto: Anticorpo anti-UTK marcato con HRP (concentrazione massima 0.0625 µg/mL), in tampone contenente conservante

Posizione 3: TAMPONE DI DILUIZIONE

Contenuto: soluzione tampone contenente conservante

Posizione 2: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina stabilizzata in tampone citrato

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

in cui trasferire il campione.

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

CALIBRATOR CALIBRATORE **1 x 0.650 ml**

Contenuto: Siero umano contenente UTK (concentrazione 30 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 UTK (concentrazione 30 ng/mL) e conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.

Liquido, pronto all'uso.

L'affidabilità delle misurazioni del Calibratore ed il Controllo positivo è garantita dalla catena di tracciabilità descritta di seguito.

Il Calibratore ed il Controllo positivo sono prodotti a partire da un campione umano a concentrazione nota di Ustekinumab diluito per raggiungere una specifica concentrazione, il cui range è lotto-dipendente e viene assegnato durante la fase di rilascio del controllo qualità utilizzando una serie di calibratori secondari ("Working calibrator").

I "Working calibrator" vengono preparati e caratterizzati in accordo con un panel di sieri umani di riferimento, con differenti livelli di Ustekinumab.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO

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

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8 °C. Nel caso di un'errata temperatura di conservazione è necessario ripetere la calibrazione e controllare la correttezza del

risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

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

I reagenti hanno una stabilità limitata dopo l'apertura:

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

7. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per venipuntura e maneggiato con le precauzioni richieste nelle procedure standard di laboratorio.

Secondo la linea guida 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. Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

Il siero fresco può essere mantenuto per 5 giorni a 2/8 °C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a temperature ≤ -20 °C (per almeno 5 mesi).

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto-sbrinatori per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

Si raccomanda vivamente di evitare qualsiasi trattamento intenso dei campioni.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

Il test CHORUS Promonitor USTEKINUMAB (REF. 86712) può essere eseguito contemporaneamente SOLO agli altri test CHORUS Promonitor.

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

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

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

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

9. VALIDAZIONE DEL TEST

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

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

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

10. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

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

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

POSITIVO: quando il risultato è $\geq 0.19 \mu\text{g/ml}$

NEGATIVO: quando il risultato è $\leq 0.10 \mu\text{g/ml}$

DUBBIO: quando il risultato è tra 0.11 e 0.18 µg/ml

Risultati dubbi/equivoci sono ottenuti in caso di valori che si trovano nel range tra il limite di detezione (<0.10 µg/ml) e il limite basso di quantizzazione (0.19 µg/ml).

In caso di risultato dubbio/equivoco, ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio/equivoco, ripetere il prelievo di siero.

11. LIMITAZIONI

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

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 UTK 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: 0.10-33.0 µg/ml

Per campioni > 33.0 µg/ml, ripetere il test diluendo il campione con Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - non fornito con il kit).

13. INTERVALLO DI RIFERIMENTO

Nella popolazione normale i valori attesi, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, sono negativi, con valori <0.10 µg/ml.

14. SPECIFICITÀ ANALITICA

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

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

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

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

3 campione Fattore Reumatoide (RF) positivi (150 IU/ml (1) e 200 IU/ml (2)) sono stati addizionati con Ustekinumab.

Livello alto – 20.0 µg/ml

Livello basso – 2.0 µg/ml

Negativo – < 0.10 µg/ml

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

15. REAZIONI CROCIATE

Sono stati testati 15 campioni, non contenenti Ustekinumab ma contenenti IFX (10.0 µg/ml) – 5 campioni, ADL (27.0 µg/ml) – 5 campioni e VDZ (65.5 µg/ml) – 5 campioni
Non sono state rilevate reazioni crociate.

16. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 248 campioni con un kit Diesse e con Promonitor UTK ELISA kit.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

		Riferimento		
Diesse	+	96	0	96
	-	1	151	152
	Totale	97	151	248

Percentuale di concordanza positiva (~ sensibilità diagnostica):

99.0% IC_{95%}: 94.3-99.8

Percentuale di concordanza negativa: (~ specificità diagnostica):

100.0% IC_{95%}: 97.5-100.0

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

Valore predittivo negativo (NPV): 99.3% IC_{95%}: 98.3-100.0

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

Dei 248 campioni, su 97 campioni positivi è stata testata la correlazione tra il kit Diesse e un altro kit in commercio.

I dati sono riassunti nella seguente tabella:

Correlazione	r	IC 95%
Pearson	0.95	0.92-0.97
Spearman	0.97	0.96-0.98

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	24.9	6.2	22.3	11.3
2	7.5	10.5	9.5	13.1
3	1.4	4.3	1.7	8.2
4	0.60	5.0	0.58	6.9
5	< 0.10	-	< 0.10	-
6	< 0.10	-	< 0.10	-

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (µg/ml)	CV%	Media (µg/ml)	CV%
1	22.4	13.7	23.7	13.6
2	7.3	13.7	8.6	15.0
3	1.6	5.0	1.9	11.1
4	0.58	13.8	0.60	11.7
5	< 0.10	-	< 0.10	-
6	< 0.10	-	< 0.10	-

18. LINEARITÀ

La linearità del test è stata valutata utilizzando 3 campioni con concentrazioni note di Ustekinumab. Sono state effettuate diluizioni seriali per ciascun campione, che hanno dimostrato la linearità del metodo da 0.11 a 33.0 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFIA

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.
- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johans J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
- Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. SEGNALAZIONE 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 USTEKINUMAB

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED PURPOSE

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

The product, used in conjunction with other clinical and laboratory findings, is useful as an aid in the management of patients treated with Ustekinumab (UTK), like patients with inflammatory bowel disease (IBD), psoriasis and rheumatic diseases.

It must be used by professional laboratory users only.

2. INTRODUCTION

Ustekinumab (UTK) is a fully human IgG1 kappa monoclonal antibody that binds with high affinity to the p40 subunit of human interleukin (IL) 12 and IL23 and has been approved for the treatment of patients with moderate to severe Crohn's disease (CD), moderate to severe ulcerative colitis (UC), psoriatic arthritis and plaque psoriasis. The drug prevents the bioactivity of IL12 and IL23 by binding and neutralizing the shared p40 subunit, preventing interaction with the cell surface receptor protein IL12Rbeta1. In the context of inflammatory bowel disease (IBD), MC and UC, the treatment regimen started with a single loading dose and a maintenance regimen with standard subcutaneous administration every 8 weeks. Clinical studies show that 2.9% to 12.4% of patients develop anti-Ustekinumab antibodies (ATU) over time. Therefore, it is important to monitor trough UTK concentrations in serum to correlate drug levels with loss of response to therapy and the occurrence of adverse events such as serum sickness and hypersensitivity reactions. Currently, Ustekinumab quantification is performed in conjunction with the immunogenicity assessment for ATU.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

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

The assay is based on a bridging ELISA method.

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

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

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

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

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

Health and Safety Information

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

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

Use the devices within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 2) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent and/or present foreign bodies in the reaction well when visually inspected.

4. The devices are for use with the CHORUS TRIO instrument; the Instructions for Use must be carefully followed and the Instrument Operating Manual must be consulted.

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

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

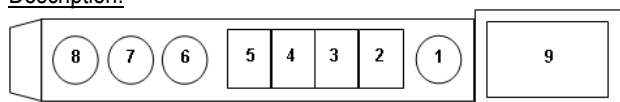
5. Check that the CHORUS TRIO instrument is set up correctly (see Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument (see CHORUS TRIO Operating Manual).
9. When CHORUS Autosampler (REF 81210) is used, refer to the related Operating Manual
10. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
11. Do not use hemolyzed, lipemic, icteric samples having a interfering concentration higher than that tested (according to the indications reported in chapter "Analytical specificity")
12. Do not use the device after the expiry date.
13. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004).**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests.

DD DEVICES 6 packages each containing 6 devices

Description:



Position 9: Space for application of bar code label

Position 8: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 7: MICROPLATE WELL

Coated with 0.5 µg/mL anti-UTK monoclonal antibody

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with 0.5 µg/mL anti-UTK monoclonal antibody

Position 5: STOP SOLUTION

Contents: 0.3 M sulfuric acid solution

Position 4: CONJUGATE

HRP-labelled anti-UTK antibody (0.0625 µg/mL max concentration) and buffer containing preservative

Position 3: DILUTION BUFFER

Contents: Buffer solution containing preservative

Position 2: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine stabilized in citrate buffer

Position 1: EMPTY WELL

in which the sample is transferred.

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in

the bag with the silica gel, expel the air and **seal** by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.650 ml

Contents: Human serum containing 30 ng/mL UTK and preservative 1000-1150 ppm BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 1.100 ml

Contents: Human serum containing 30 ng/mL UTK and 1000-1150 ppm preservative BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) Liquid, ready for use.

Confidence in measurements of Calibrator and Positive control is established with traceability to measurement standards as follows.

Calibrator and Positive control are produced diluting a known concentration of human USTEKINUMAB in its own stabilizing medium. The relative exact range concentration is lot-dependent and is assigned during the releasing Quality control phase using a series of Working Calibrators.

The Working Calibrators are prepared and characterized, checking the consensus with a reference sera panel with different USTEKINUMAB levels.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

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

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

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

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

Reagents have a limited stability after opening:

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

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

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

According to the guideline CLSI H18-A3 Serum specimens to be tested should be clotted before centrifugation; spontaneous and complete clotting normally occurs within 30 to 60 minutes at 22°C-25°C.

It is recommended that serum be physically separated, by centrifugation, from contact with cells as soon as possible with a maximum time limit of 2 hours from the time of collection.

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

The fresh serum may be stored for 5 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at temperature $\leq -20^{\circ}\text{C}$ (for at least 5 months) 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 Ustekinumab (REF 86712) 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 $\mu\text{l}/\text{device}$
CALIBRATOR	130 $\mu\text{l}/\text{device}$
POSITIVE CONTROL	130 $\mu\text{l}/\text{device}$

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 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 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 $\geq 0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$
NEGATIVE: when the result is $\leq 0.10 \mu\text{g}/\text{ml}$

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: when the result is between 0.11 and 0.18 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Doubtful/equivocal results are obtained in case of values which ranges between Limit of detection ($< 0.10 \mu\text{g}/\text{ml}$) and Low Limit of Quantitation ($0.19 \mu\text{g}/\text{ml}$).

If the result is doubtful/equivocal, repeat the test. If it remains doubtful/equivocal, collect a new serum sample.

11. LIMITATIONS

The test measures free UTK. It does not measure UTK bound to anti-UTK 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, UTK 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: 0.10-33.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$

For samples $> 33 \mu\text{g}/\text{ml}$ 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 $< 0.10 \mu\text{g}/\text{ml}$.

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 in the test serum does not alter the test result.

3 Rheumatoid Factor (RF) positive samples 150 IU/ml (1) and 200 IU/mL (2) were spiked with Ustekinumab:

High level - 20.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Low level - 2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$
Negative - $< 0.10 \mu\text{g}/\text{ml}$

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

15. CROSS-REACTIONS

15 samples, not containing UTK, but containing various concentrations of IFX (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) - 5 samples, ADL (27.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) - 5 samples, VDZ (65.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) - 5 samples were tested. No cross-reactions were found.

16. METHOD COMPARISON

In an experimentation 248 samples have been tested with Diesse kit and with Promonitor UTK ELISA kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Tot.
	+	96	0	96
	-	1	151	152
Diesse	Tot.	97	151	248

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity):

99.0% IC_{95%}: 94.3-99.8

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity):

100.0% IC_{95%}: 97.5-100.0

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

Negative Predictive Value (NPV): 99.3% IC_{95%}: 98.3-100.0

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

Out of 248, for 97 positive samples the correlation between Diesse kit and a competitor kit was tested.

Data are summarized in the following table:

Correlation	r	95%CI
Pearson	0.95	0.92-0.97
Spearman	0.97	0.96-0.98

The correlation between the two methods is very high.

17. PRECISION AND REPEATABILITY

Sample	Within run		Between run	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	24.9	6.2	22.3	11.3
2	7.5	10.5	9.5	13.1
3	1.4	4.3	1.7	8.2
4	0.60	5.0	0.58	6.9
5	< 0.10	-	< 0.10	-
6	< 0.10	-	< 0.10	-

Sample	Between lots		Between instruments	
	Mean (µg/ml)	CV%	Mean (µg/ml)	CV%
1	22.4	13.7	23.7	13.6
2	7.3	13.7	8.6	15.0
3	1.6	5.0	1.9	11.1
4	0.58	13.8	0.60	11.7
5	< 0.10	-	< 0.10	-
6	< 0.10	-	< 0.10	-

18. LINEARITY

The linearity of the test was evaluated with 3 samples with known concentration of Ustekinumab. For each sample 10 serial dilutions were done; the linearity was demonstrated in the range 0.11-33.0 µg/ml.

19. BIBLIOGRAPHY

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.

- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johanns J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
- Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. INCIDENT REPORTING

If any serious incident in relation to this device has occurred in the European Union market territory, please report without delay to the manufacturer and competent authority of your Member State.



NÁVOD K POUŽITÍ

CHORUS Promonitor USTEKINUMAB

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

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

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

Musí být používán výhradně odbornými laboratorními technikami.

2. ÚVOD

Ustekinumab (UTK) je plně lidská monoklonální protilátka IgG1 kappa, která se s vysokou afinitou váže na podjednotku p40 lidského interleukinu (IL) 12 a IL23 a byla schválena pro léčbu pacientů se středně těžkou až těžkou Crohnovou chorobou (CD), středně těžkou až těžkou ulcerózní kolitidou (CU), psoriatickou artritidou a plakovou psoriázou. Toto léčivo zabraňuje bioaktivitě IL12 a IL23 tím, že váže a neutralizuje společnou podjednotku p40, což zabraňuje interakci s receptorovým proteinem IL12Rbeta1 na povrchu buněk. V souvislosti se zánětlivým onemocněním střev (IBD), MD a UC se léčebný režim zahajuje jednorázovou nasycovací dávkou a udržovacím režimem se standardním subkutánním podáním každých 8 týdnů. Klinické studie ukazují, že u 2,9 % až 12,4 % pacientů se v průběhu času vytvoří protilátky anti-ustekinumab (ATU). Proto je důležité sledovat minimální koncentrace UTK v séru, aby bylo možné korelovat hladiny léčiva se ztrátou odpovědi na léčbu a výskyt nežádoucích účinků, jako je sérová nemoc a hypersenzitivní reakce. V současné době se kvantifikace ustekinumabu provádí společně s hodnocením imunogenity pro ATU.

3. PRINCIP METODY

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

Test je založen na metodě ELISA s přemostující protilátkou.

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

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

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

Výsledky jsou vyjádřeny v µg/ml.

4. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

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 nasazený jednorázové rukavice a chraňte si oči.
3. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS TRIO si důkladně umyjte ruce.
4. Veškeré informace týkající se bezpečnosti reagentů obsažených v soupravě naleznete v 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 nevráťte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

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

1. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 2) zlikvidujte.**
2. Pokud je vzorek přidán do jamky manuálně, zkontrolujte, zda je dokonale rozložen.
3. Zkontrolujte skutečnou přítomnost reagentů v nástroji a neporušenost samotného nástroje. Nepoužívejte nástroje, v nichž při vizuální kontrole chybí nějaké reagenty a/nebo vykazují cizí tělesa v reakční jamce.

4. Nástroje slouží k použití v kombinaci se zařízením CHORUS TRIO; je třeba pozorně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku zařízení.

Použití soupravy je možné pouze s CHORUS TRIO s aktualizovanou verzí softwaru. Ujistěte se, že software nainstalovaný na zařízení má verzi (Rel.) odpovídající nebo novější než tu, která je uvedena v tabulce zveřejněné na webových stránkách Diesse (<https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/>)

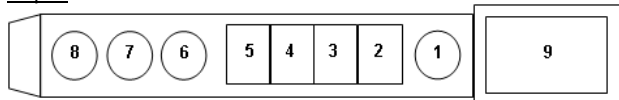
5. Zkontrolujte, zda je zařízení CHORUS TRIO správně nastaveno (viz příslušná uživatelská příručka).
6. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
7. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.
8. Případné defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně (viz uživatelská příručka CHORUS TRIO).
9. Pokud používáte zařízení CHORUS Autosampler (REF 81210), řiďte se příslušnou uživatelskou příručkou.
10. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
11. 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 36 stanovení.

DD NÁSTROJE 6 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

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-UTK 0.5 µg/mL

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Potažená lidskou monoklonální protilátkou anti-UTK 0.5 µg/mL

Pozice 5: ZASTAVOVACÍ ROZTOK

Obsah: roztok kyseliny sírové 0.3 M

Pozice 4: KONJUGÁT

Obsah: Protilátka anti-UTK značená HRP (maximální koncentrace 0.0625 µg/m) v pufru obsahujícím konzervační látku

Pozice 3: ŘEDICÍ PUFR

Obsah: pufrovací roztok obsahující konzervační látku

Pozice 2: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin stabilizovaný v citrátovém pufru

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

kamž se přenáší vzorek.

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

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.650 ml

Obsah: Lidské sérum obsahující UTK (koncentrace 30 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 UTK (koncentrace 30 ng/mL) a konzervační látku BND (5-Brom-5-nitro-1.3-dioxan) 1000-1150 ppm.

Tekutina připravená k použití.

Spolehlivost měření kalibrátoru a pozitivní kontroly je zaručena níže popsaným řetězcem sledovatelnosti.

Kalibrátor a pozitivní kontrola se získávají z lidského vzorku se známou koncentrací ustekinumabu zředěného tak, aby se dosáhlo specifické koncentrace, jejíž rozsah závisí na šarži a je přiřazen během fáze prověřování kontroly kvality pomocí řady sekundárních kalibrátorů („pracovní kalibrátory“).

„Pracovní kalibrátory“ jsou připravovány a charakterizovány podle panelu referenčních lidských sér s různými hladinami ustekinumabu.

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 objemů 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

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

Podle pokynů 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. Možné následky v případě použití jiných biologických tekutin nejsou známy.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 5 dnů při teplotě 2/8 °C; při delším skladování je třeba vzorek zmrazit při teplotách ≤ -20 °C (po dobu alespoň 5 měsíců).

Vzorek je možné rozmrazit maximálně třikrát. Vyvarujte se skladování vzorků v mrazácích s automatickým odmrazováním.

Rozmrazený vzorek je nutné před použitím pečlivě protřepat.

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 USTEKINUMAB (REF. 86712) lze provádět současně POUZE s ostatními testy CHORUS Promonitor.

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

VZOREK	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 ≥ 0.19 µg/ml
NEGATIVNÍ: je-li výsledek ≤ 0.10 µg/ml
SPORNÝ: je-li výsledek mezi 0.11 a 0.18 µg/ml

Sporné/nejednoznačné výsledky se získají v případě hodnot, které se nacházejí v rozmezí mezi mezí detekce (<0.10 µg/ml) a spodní mezí stanovitelnosti (0.19 µg/ml).

V případě sporného/nejednoznačného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný/nejednoznačný, odeberte nové sérum.

11. OMEZENÍ

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

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 UTK 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: 0.10-33.0 µg/ml

U vzorků > 33.0 µg/ml zopakujte test rozředěním vzorku v negativní kontrole/ředidlo vzorku (REF 83607 - není součástí soupravy).

13. REFERENČNÍ INTERVAL

Očekávané hodnoty v normální populaci stanovené vyšetřením 120 sér od zdravých dárců jsou negativní s hodnotami <0,10 µg/ml.

14. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

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

Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)
Triglyceridy (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobin (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

pozitivní vzorky revmatoidního faktoru (RF) (150 UI/ml (1) a 200 IU/ml (2)) byly doplněny ustekinumabem.

Vysoká hladina – 20.0 µg/ml

Nízká hladina – 2.0 µg/ml

Negativní – < 0.10 µg/ml

Přítomnost RF v testovaném séru neovlivňuje výsledek testu.

15. KŘÍŽOVÉ REAKCE

Bylo testováno 15 vzorků, které neobsahovaly ustekinumab, ale obsahovaly IFX (10.0 µg/ml) – 5 vzorků, ADL (27.0 µg/ml) – 5 vzorků a VDZ (65.5 µg/ml) – 5 vzorků
Nebyly hlášeny žádné křížové reakce.

16. SROVNÁNÍ METOD

V experimentální studii bylo analyzováno 248 vzorků pomocí soupravy Diesse a pomocí soupravy Promonitor UTK ELISA.

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	96	0	96
	-	1	151	152

	Celkem	97	151	248
--	---------------	----	-----	-----

Procento pozitivní konkordance (~ diagnostická citlivost):

99.0% IC_{95%}: 94.3-99.8

Procento negativní konkordance (~ diagnostická specifita):

100.0% IC_{95%}: 97.5-100.0

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): 100.0% IC_{95%}: 100.0-100.0

Negativní prediktivní hodnota (NPV): 99.3% IC_{95%}: 98.3-100.0

Stupeň konkordance mezi oběma metodami je velmi dobrý s hodnotou K (Cohenův koeficient) rovnou 1.0.

Ze 248 vzorků bylo 97 pozitivních vzorků testováno na korelaci mezi soupravou DIESSE a jinou komerčně dostupnou soupravou.

Data jsou shrnuta v následující tabulce:

Korelace	r	IC 95%
Pearson	0.95	0.92-0.97
Spearman	0.97	0.96-0.98

Korelace mezi těmito dvěma metodami je velmi vysoká.

17. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Mezi měřeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	24.9	6.2	22.3	11.3
2	7.5	10.5	9.5	13.1
3	1.4	4.3	1.7	8.2
4	0.60	5.0	0.58	6.9
5	< 0.10	-	< 0.10	-
6	< 0.10	-	< 0.10	-

Vzorek	Mezi šaržemi		Mezi zařízeními	
	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %	Průměr (µg/ml)	Variační koeficient (CV) %
1	22.4	13.7	23.7	13.6
2	7.3	13.7	8.6	15.0
3	1.6	5.0	1.9	11.1
4	0.58	13.8	0.60	11.7
5	< 0.10	-	< 0.10	-
6	< 0.10	-	< 0.10	-

18. LINEARITA

Linearita testu byla hodnocena pomocí 3 vzorků se známými koncentracemi ustekinumabu. Pro každý vzorek byla provedena sériová ředění, která prokázala linearitu metody od 0.11 do 33.0 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFIE

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic

Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.

- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johans J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
- Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍCH UDÁLOSTÍ

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



GEBRAUCHSANLEITUNG

CHORUS Promonitor USTEKINUMAB

Ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt

1. ZWECKBESTIMMUNG

CHORUS Promonitor USTEKINUMAB ist ein Immunoassay-Testsatz für die automatisierte quantitative Bestimmung von Ustekinumab 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 Ustekinumab (UTK) verabreicht wird, wie Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen (IBD) und rheumatischen Erkrankungen.

Es darf nur von Laborfachkräften verwendet werden.

2. EINLEITUNG

Ustekinumab (UTK) ist ein vollständig humaner monoklonaler IgG1-kappa-Antikörper, der mit hoher Affinität an die p40-Untereinheit von menschlichem Interleukin (IL) 12 und IL23 bindet und für die Behandlung von Patienten mit mittelschwerem bis schwerem Morbus Crohn (CD), mittelschwerer bis schwerer Colitis ulcerosa (CU), psoriatischer Arthritis und Plaque-Psoriasis zugelassen ist. Das Arzneimittel verhindert die Bioaktivität von IL12 und IL23, indem es die gemeinsame p40-Untereinheit bindet und neutralisiert und so die Interaktion mit dem Zelloberflächen-Rezeptorprotein IL12Rbeta1 verhindert. Im Zusammenhang mit entzündlichen Darmerkrankungen (IBD), MC und UC begann das Behandlungsschema mit einer einmaligen Ladedosis und einem Erhaltungsschema mit standardmäßiger subkutaner Verabreichung alle 8 Wochen. Klinische Studien zeigen, dass 2,9 % bis 12,4 % der Patienten im Laufe der Zeit Anti-Ustekinumab-Antikörper (ATU) entwickeln. Daher ist es wichtig, die UTK-Konzentrationen im Serum zu überwachen, um die Arzneimittelspiegel mit dem Verlust des Ansprechens auf die Therapie und dem Auftreten unerwünschter Ereignisse wie Serumkrankheit und Überempfindlichkeitsreaktionen zu korrelieren. Derzeit wird die Quantifizierung von Ustekinumab zusammen mit der Bewertung der Immunogenität für ATU durchgeführt.

3. TESTPRINZIP

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

Der Test basiert auf dem Prinzip der ELISA-Brücken-Methode.

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

UTK ist in der Lage, sich nach der Inkubation mit der Probe an das vorimmobilisierte Anti-UTK zu binden. Nach dem Waschen

zur Entfernung der ungebundenen Probe wird ein HRP-markierter Anti-UTK-Antikörper (Konjugat) zugegeben. Im zweiten Inkubationsschritt kann sich das Konjugat an das UTK binden, das an den Vertiefungen der Mikroplatte haftet.

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

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

Die Ergebnisse sind in µg/ml angegeben.

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

Warnhinweise zur Analyse

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

1. Die Testmodule mit blau gefärbtem Substrat (Vertiefung 2) aussortieren.
2. Bei manuellem Einfüllen der Probe in die Vertiefung auf die perfekte Verteilung achten.
3. Kontrollieren Sie, ob die Reagenzien im Testmodul enthalten sind und ob letzteres unversehrt ist. Keine Testmodule verwenden, bei denen im Zuge der Sichtkontrolle festgestellt wird, dass Reagenzien fehlen, oder bei denen sich Fremdkörper in der Reaktionsvertiefung befinden.
4. Die Testmodule müssen zusammen mit dem CHORUS TRIO Laboranalysator verwendet werden. Dabei sind diese Gebrauchsanleitung und die Anweisungen in der Gebrauchsanleitung des Analysators strikt zu befolgen.

Die Nutzung des 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/>)

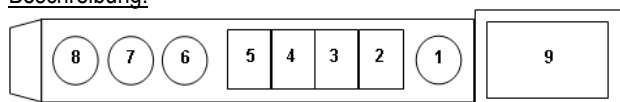
5. Kontrollieren, ob der CHORUS TRIO Laboranalysator korrekt eingestellt ist (siehe betreffende Gebrauchsanleitung).
6. Den Strichcode auf dem Griff des Testmoduls nicht beschädigen, damit er vom Laboranalysator korrekt gelesen werden kann.
7. Für die Aufbewahrung der Proben keine selbstabtauenden Tiefkühlgeräte 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 36 Bestimmungen.

DD TESTMODULE 6 Packungen mit je 6 Testmodulen

Beschreibung:



Position 9: Platz für Strichcode-Etikett

Position 8: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 7: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit humanem monoklonalem Anti-UTK-Antikörper 0,5 µg/ml

Position 6: MIKROPLATTENVERTIEFUNG

Beschichtet mit humanem monoklonalem Anti-UTK-Antikörper 0,5 µg/ml

Position 5: STOPPLÖSUNG

Inhalt: Schwefelsäurelösung 0,3 M

Position 4: KONJUGAT

Inhalt: HRP-markierter Anti-UTK-Antikörper (Höchstkonzentration 0,0625 µg/ml), in Puffer mit Konservierungsmittel

Position 3: VERDÜNNUNGSPUFFER

Inhalt: Pufferlösung mit Konservierungsmittel

Position 2: TMB SUBSTRAT

Inhalt: Tetramethylbenzidin in Citratpuffer stabilisiert

Position 1: LEERE VERTIEFUNG

für die Probe.

Gebrauch: Einen Beutel auf Raumtemperatur bringen, den Beutel öffnen und die benötigten Testmodule herausnehmen; die nicht benötigten in den Beutel mit Kieselgel zurücklegen, die Luft entweichen lassen und den Beutel durch Drücken auf den Verschluss **versiegeln**. Bei 2–8 °C aufbewahren.

CALIBRATOR KALIBRATOR

1 x 0,650 ml

Inhalt: Humanserum mit UTK (Konzentration 30 ng/ml) und Konservierungsmittel BND (5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm.

Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL + POSITIVKONTROLLE

1 x 1.100 ml

Inhalt: Humanserum mit UTK (Konzentration 30 ng/ml) und Konservierungsmittel BND (5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm.

Flüssig, gebrauchsfertig.

Die Zuverlässigkeit der Messungen des Kalibrators und der Positivkontrolle wird durch die unten beschriebene Rückverfolgbarkeitskette gewährleistet.

Der Kalibrator und die Positivkontrolle werden aus einer Humanprobe mit bekannter Ustekinumab-Konzentration hergestellt, die auf eine bestimmte Konzentration verdünnt wird, deren Bereich chargenabhängig ist und während der Freigabephase der Qualitätskontrolle mit einer Reihe von Sekundärkalibratoren ("Arbeitskalibratoren") zugewiesen wird. Arbeitskalibratoren werden auf der Grundlage eines Panels menschlicher Referenzseren mit unterschiedlichen Ustekinumab-Konzentrationen hergestellt und charakterisiert.

WEITERES ERFORDERLICHES, ABER NICHT MITGELIEFERTES MATERIAL

- WASCHPUFFER AUTOIMMUNITY **REF.** 86004
- REINIGUNGSLÖSUNG 2000 **REF.** 83609
- DESINFektionsLÖSUNG **REF.** 83604
- CHORUS NEGATIVKONTROLLE/PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL **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
POSITIVKONTROLLE	8 Wochen bei 2–8 °C

7. SAMMLUNG UND LAGERUNG VON PROBEN

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

Gemäß 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. Die Folgen bei Verwendung anderer biologischer Flüssigkeiten sind nicht bekannt.

Das frische Serum kann bei 2/8 °C 5 Tage lang aufbewahrt werden; für eine längere Aufbewahrung wird es bei einer Temperatur von -20 °C eingefroren (mindestens 5 Monate).

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.

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 USTEKINUMAB-Test (REF. 86712) kann gleichzeitig NUR mit den anderen CHORUS Promonitor-Tests durchgeführt werden.

1. Den Beutel öffnen (Seite mit Druckverschluss), die für die Durchführung der Tests erforderliche Anzahl von Testmodulen entnehmen und den Beutel mit den restlichen Testmodulen nach dem Entfernen der Luft wieder verschließen.

2. Das Testmodul gemäß den Anweisungen in Kapitel 4 Warnhinweise zur Analyse, einer Sichtkontrolle unterziehen.
3. In die Vertiefung Nr. 1 jedes Testmoduls geben:

PROBE	130 µl/Testmodul
KALIBRATOR	130 µl/Testmodul
POSITIVKONTROLLE	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 Positivkontrolle zu verwenden, indem diese gemäß den Anweisungen der Gebrauchsanleitung des Analysators verarbeitet wird. Wenn der Analysator für die Positivkontrolle 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 $\geq 0,19$ µg/ml

NEGATIV: bei Ergebnis $\leq 0,10$ µg/ml

GRAUZONE/MEHRDEUTIG: bei Ergebnis zwischen 0,11 und 0,18 µg/ml

Mehrdeutige oder Ergebnisse in der Grauzone werden erzielt, wenn die Werte im Bereich zwischen der Nachweisgrenze ($< 0,10$ µg/ml) und der unteren Quantifizierungsgrenze ($0,19$ µg/ml) liegen.

Den Test wiederholen, wenn das Ergebnis in der Grauzone liegt/mehrdeutig ist. Sollte das Ergebnis weiterhin in der Grauzone/mehrdeutig bleiben, die Entnahme des Serums wiederholen.

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

Mit diesem Assay wird freier UTK gemessen. Nicht gemessen werden die Immunkomplexe, die aus UTK und den Anti-UTK-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, UTK-Konzentration und anderer klinischer Befunde, z. B. 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: 0,10–33,0 µg/ml

Bei Proben >33,0 µg/ml den Test wiederholen und die Probe zuvor mit Negativer Kontrolle/Probenverdünnungsmedium (REF. 83607 - nicht im Testsatz enthalten) verdünnen.

13. REFERENZINTERVALL

In der Normalbevölkerung sind die Erwartungswerte, ermittelt durch die Untersuchung von 120 Seren gesunder Spender, mit Werten <0,10 µg/ml negativ.

14. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

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

Bilirubin (4,5 mg/dl–45 mg/dl)

Triglyceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Hämoglobin (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

Zu 3 positiven Rheumafaktor (RF)-Proben (150 IE/ml (1) und 200 IE/ml (2)) wurde Ustekinumab hinzugefügt.

Hoher Spiegel – 20,0 µg/ml

Niedriger Spiegel – 2,0 µg/ml

Negativ - <0,10 µg/ml

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

15. KREUZREAKTIONEN

Es wurden 15 Proben getestet, die kein Ustekinumab enthielten, dafür aber IFX (10,0 µg/ml) - 5 Proben, ADL (27,0 µg/ml) - 5 Proben und VDZ (65,5 µg/ml) - 5 Proben.

Es wurden keine Kreuzreaktionen festgestellt.

16. VERGLEICHSTUDIEN

In einem Versuch wurden 248 Proben mit dem Diesse-Testsatz und einem Promonitor UTK ELISA-Testsatz getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
	+	96	0	96
Diesse	-	1	151	152
	Insgesamt	97	151	248

Positive Übereinstimmungsrate (~diagnostische Sensitivität): 99,0 % KI_{95%}: 94,3–99,8

Negative Übereinstimmungsrate: (~diagnostische Spezifität): 100,0 % KI_{95%}: 97,5–100,0

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

Negativer Vorhersagewert (NPV): 99,3 % KI_{95%}: 98,3–100,0

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

Von den 248 Proben wurde die Korrelation zwischen dem Diesse-Testsatz und einem anderen auf dem Markt erhältlichen Testsatz an 97 positiven Proben getestet.

Die Daten sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst:

Korrelation	r	95 % KI
Pearson	0,95	0,92–0,97
Spearman	0,97	0,96–0,98

Die Korrelation zwischen den beiden Methoden ist sehr hoch.

17. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Probe	Innerhalb eines Durchlaufs		Zwischen Durchläufen	
	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	24,9	6,2	22,3	11,3
2	7,5	10,5	9,5	13,1
3	1,4	4,3	1,7	8,2
4	0,60	5,0	0,58	6,9
5	<0,10	-	<0,10	-
6	<0,10	-	<0,10	-

Probe	Zwischen Chargen		Zwischen Analysatoren	
	Mittelwert (µg/ml)	VK %	Mittelwert (µg/ml)	VK %
1	22,4	13,7	23,7	13,6
2	7,3	13,7	8,6	15,0
3	1,6	5,0	1,9	11,1
4	0,58	13,8	0,60	11,7
5	<0,10	-	<0,10	-
6	<0,10	-	<0,10	-

18. LINEARITÄT

Die Linearität des Assays wurde unter Verwendung von 3 Proben mit bekannten Konzentrationen von Ustekinumab bewertet. Für jede Probe wurden Verdünnungsreihen angefertigt, mit denen die Linearität der Methode von 0,11 bis 33,0 µg/ml nachgewiesen wurde.

19. LITERATUR

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.
- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johans J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.

5. Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. MELDUNG VON VORKOMMNISSEN

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 USTEKINUMAB

Solo para uso diagnóstico *in vitro*

1. USO PREVISTO

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

Para uso exclusivo de técnicos de laboratorio profesionales.

2. INTRODUCCIÓN

Ustekinumab (UTK) es un anticuerpo monoclonal IgG1 kappa completamente humano que se une con alta afinidad a la subunidad p40 de la interleucina humana (IL) 12 e IL23 y ha sido aprobado para el tratamiento de pacientes con enfermedad de Crohn (EC) de moderada a grave, colitis ulcerosa (CU) de moderada a grave, artritis psoriásica y psoriasis en placa. El fármaco previene la bioactividad de IL12 e IL23 al unirse y neutralizar la subunidad p40 compartida, evitando la interacción con la proteína receptora de la superficie celular IL12Rbeta1. En el contexto de las enfermedades inflamatorias intestinales (EII), EC y CU, la pauta de tratamiento se inició con una única dosis de carga y un programa de mantenimiento con administración subcutánea estándar cada 8 semanas. Estudios clínicos han demostrado que entre el 2,9 % y el 12,4 % de los pacientes desarrollan anticuerpos anti-ustekinumab (ATU) con el tiempo. Por lo tanto, es importante controlar las concentraciones mínimas de UTK en suero para correlacionar los niveles de fármaco con la pérdida de respuesta a la terapia y la aparición de eventos adversos como la enfermedad del suero y las reacciones de hipersensibilidad. Actualmente, la cuantificación de Ustekinumab se realiza junto con la evaluación de la inmunogenicidad para el ATU.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

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

La prueba se basa en un método ELISA puente.

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

El UTK puede unirse al anti-UTK preinmovilizado tras la incubación con la muestra. Tras el lavado para eliminar la muestra no unida, se añade un anticuerpo anti-UTK marcado con HRP (conjugado). Un segundo paso de incubación permite que el conjugado se una al UTK 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 UTK 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 µg/ml.

4. 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 DIESE: www.diese.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 y utilizarlos en los 60 minutos siguientes.

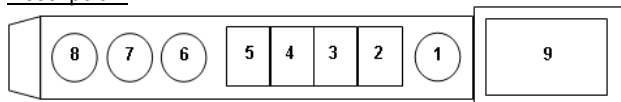
1. **Descartar los dispositivos con substrato (pocillo 2) de color azul.**
2. Si se añade la muestra al pocillo manualmente, comprobar que esté distribuida perfectamente.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado. No utilizar dispositivos si se detecta la 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
[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](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 36 determinaciones.

DD DISPOSITIVOS 6 envases de 6 unidades cada uno

Descripción:



Posición 9: Espacio disponible para etiqueta con código de barras

Posición 8: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

Posición 7: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con anticuerpo monoclonal humano anti-UTK 0,5 µg/ml

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Recubierto con anticuerpo monoclonal humano anti-UTK 0,5 µg/ml

Posición 5: SOLUCIÓN INHIBIDORA

Contenido: Solución de ácido sulfúrico 0,3 M.

Posición 4: CONJUGADO

Contenido: Anticuerpo anti-UTK marcado con HRP (concentración máxima de 0,0625 µg/ml), en tampón que contiene conservante.

Posición 3: TAMPÓN DE DILUCIÓN

Contenido: solución tampón que contiene conservante

Posición 2: SUSTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina estabilizada en tampón citrato

Posición 1: POCILLO VACÍO

donde se debe transferir la muestra.

Uso: Dejar que una bolsa alcance la temperatura ambiente,

abrir la bolsa y sacar los dispositivos correspondientes; colocar los demás en la bolsa que contiene el gel de sílice, expulsar el aire de la bolsa y **sellarla** ejerciendo presión sobre el cierre. Conservar a 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0,650 ml

Contenido: Suero humano que contiene UTK (concentración 30 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 UTK (concentración 30 ng/ml) y conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano) 1000-1150 ppm.

Líquido, listo para el uso.

La fiabilidad de las medidas del Calibrador y del Control positivo está garantizada por la cadena de trazabilidad que se describe a continuación.

El Calibrador y el Control positivo se producen a partir de una muestra humana de concentración conocida de Ustekinumab diluida para alcanzar una concentración específica, cuyo rango depende del lote y se asigna durante la fase de aprobación del control de calidad utilizando una serie de calibradores secundarios («Working calibrator»).

Los «Working calibrator» se preparan y caracterizan de acuerdo con un panel de sueros humanos de referencia, con diferentes niveles de Ustekinumab.

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

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

De acuerdo con la directriz 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. No se conocen las consecuencias del uso de otros líquidos biológicos. El suero fresco se puede conservar a 2-8 °C durante 5 días; para conservaciones más largas congelar a temperaturas ≤ -20 °C (durante al menos 5 meses).

La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. Evitar el uso de congeladores con desescarche automático para conservar las muestras. Después de descongelar la muestra, agitarla con cuidado antes de su uso.

Se recomienda encarecidamente evitar cualquier procesamiento agresivo de las muestras.

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

8. PROCEDIMIENTO

La prueba CHORUS Promonitor USTEKINUMAB (REF. 86712) 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 $\geq 0,19$ µg/ml

NEGATIVO: cuando el resultado es $\leq 0,10$ µg/ml

DUDOSO: cuando el resultado está comprendido entre 0,11 y 0,18 µg/ml

Se obtienen resultados dudosos o equívocos en caso de valores que se encuentren en el rango entre el límite de detección ($< 0,10$ µg/ml) y el límite bajo de cuantificación (0,19 µg/ml).

En caso de resultado dudoso o equívoco se aconseja repetir la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso o equívoco, repetir la extracción de suero.

11. LIMITACIONES

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

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 UTK 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: 0,10-33,0 µg/ml

Para las muestras $> 33,0$ µg/ml, repetir la prueba diluyendo la muestra previamente en Negative Control/Sample Diluent (REF. 83607 - no incluido en el kit).

13. INTERVALO DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante el análisis de 120 sueros de donantes sanos, son negativos con valores <0,10 µg/ml.

14. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

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

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

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

Se añadió Ustekinumab a 3 muestras Factor Reumatoide (FR) positivas (150 UI/ml [1] y 200 UI/ml [2]).

Nivel alto – 20,0 µg/ml

Nivel bajo – 2,0 µg/ml

Negativo – <0,10 µg/ml

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

15. REACCIONES CRUZADAS

Se analizaron 15 muestras que no contenían Ustekinumab, pero que contenían IFX (10,0 µg/ml) – 5 muestras, ADL (27,0 µg/ml) – 5 muestras y VDZ (65,5 µg/ml) – 5 muestras
No se encontraron reacciones cruzadas.

16. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En una prueba se analizaron 248 muestras con un kit Diesse y con un kit Promonitor UTK ELISA.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	96	0	96
	-	1	151	152
	Total	97	151	248

Porcentaje de concordancia positiva (~ sensibilidad diagnóstica):

99,0% IC_{95%}: 94,3-99,8

Porcentaje de concordancia negativa: (~ especificidad diagnóstica):

100,0 % IC_{95%}: 97,5-100,0

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

Valor predictivo negativo (VPN): 99,3% IC_{95%}: 98,3-100,0

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

De las 248 muestras, se probó en 97 muestras positivas la correlación entre el kit Diesse y otro kit comercial.

Los datos se resumen en la siguiente tabla:

Correlación	r	IC del 95 %
Pearson	0,95	0,92-0,97
Spearman	0,97	0,96-0,98

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	24,9	6,2	22,3	11,3
2	7,5	10,5	9,5	13,1
3	1,4	4,3	1,7	8,2
4	0,60	5,0	0,58	6,9
5	<0,10	-	<0,10	-
6	<0,10	-	<0,10	-

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (µg/ml)	CV %	Media (µg/ml)	CV %
1	22,4	13,7	23,7	13,6
2	7,3	13,7	8,6	15,0
3	1,6	5,0	1,9	11,1
4	0,58	13,8	0,60	11,7
5	<0,10	-	<0,10	-
6	<0,10	-	<0,10	-

18. LINEALIDAD

La linealidad del ensayo se evaluó utilizando 3 muestras con concentraciones conocidas de Ustekinumab. Se realizaron diluciones seriadas para cada muestra, que demostraron la linealidad del método de 0,11 a 33,0 µg/ml.

19. BIBLIOGRAFÍA

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.
- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johans J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
- Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

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



MODE D'EMPLOI

CHORUS Promonitor USTEKINUMAB

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION PRÉVUE

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

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

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

2. INTRODUCTION

L'Ustekinumab (UTK) est un anticorps monoclonal IgG1 kappa entièrement humain qui se lie avec une haute affinité à la sous-unité p40 de l'interleukine humaine (IL) 12 et IL23 et a été approuvé pour le traitement des patients atteints de la maladie de Crohn (MC) de modérée à sévère, de colite ulcéreuse (CU) de modérée à sévère, de rhumatisme psoriasique et de psoriasis en plaques. Le médicament empêche la bioactivité de l'IL12 et de l'IL23 en se liant et en neutralisant la sous-unité p40 partagée, empêchant l'interaction avec la protéine du récepteur de surface cellulaire IL12Rbeta1. Dans le cadre des maladies inflammatoires de l'intestin (IBD), MC et CU, le schéma thérapeutique a commencé par une dose de charge unique et un schéma de maintien avec une administration sous-cutanée standard toutes les 8 semaines. Des études cliniques montrent que 2,9 % à 12,4 % des patients développent des anticorps anti-Ustekinumab (ATU) dans le temps. Aussi, il est important de surveiller les concentrations minimales d'UTK dans le sérum pour corrélérer les niveaux de médicament avec la perte de réponse au traitement et la survenue d'événements indésirables tels que la maladie sérique et les réactions d'hypersensibilité. Actuellement, la quantification de l'Ustekinumab est effectuée conjointement à l'évaluation de l'immunogénicité pour l'ATU.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif CHORUS Promonitor USTEKINUMAB est prêt à l'emploi pour la détermination d'Ustekinumab dans le sérum humain, dans le dispositif CHORUS TRIO.

Le test est basé sur une méthode ELISA de type « pont ».

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

L'UTK est en mesure de se lier à l'anti-UTK pré-immobilisé après incubation avec l'échantillon. Après lavage pour éliminer

l'échantillon non lié, un anticorps anti-UTK marqué avec HRP (conjugué) est ajouté. Une deuxième phase d'incubation permet au conjugué de se lier à l'UTK 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'UTK présente dans l'échantillon du patient.

Les dispositifs jetables contiennent tous les réactifs pour effectuer le test lorsqu'ils sont appliqués au dispositif CHORUS TRIO.

Les résultats sont exprimés en µg/ml.

4. 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 barrettes 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 appareils à utiliser à température ambiante (18-30 °C) pendant au moins 30 minutes et utiliser dans les 60 minutes.

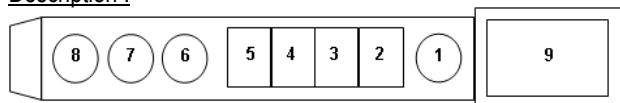
1. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 2) coloré de bleu.**
2. Si l'échantillon est ajouté manuellement dans le puits, vérifier qu'il est parfaitement réparti.
3. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif ; ne pas utiliser les dispositifs dans lesquels, après contrôle visuel, un quelconque réactif serait manquant et/ou 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'appareil est une version (Rel.) qui correspond ou est postérieure à celle qui est 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 36 déterminations.

DD DISPOSITIFS 6 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

Recouvert d'un anticorps monoclonal humain anti-UTK 0,5 µg/mL

Position 6 : PUIITS DE MICROPLAQUE

Recouvert d'un anticorps monoclonal humain anti-UTK 0,5 µg/mL

Position 5 : SOLUTION D'ARRÊT

Contenu : solution d'acide sulfurique 0,3 M

Position 4 : CONJUGUÉ

Contenu : Anticorps anti-UTK marqué à la HRP dans un tampon contenant un conservateur (concentration maximale de 0,0625 µg/mL)

Position 3 : TAMPON DE DILUTION

Contenu : solution tampon contenant un conservateur

Position 2 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine stabilisé dans un tampon citrate

Position 1 : PUIITS VIDE

dans lequel l'échantillon doit être transféré.

Utilisation : 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'UTK (concentration 30 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'UTK (concentration 30 ng/mL) et du conservateur BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane) 1000-1150 ppm.

Liquide, prêt à l'emploi.

La fiabilité des mesures du calibre et le contrôle positif est garanti par la chaîne de traçabilité décrite ci-dessous.

Le Calibre et le Contrôle Positif sont produits à partir d'un échantillon humain à la concentration connue de Ustekinumab dilué pour atteindre une concentration spécifique dont la plage est dépendante du lot et est attribuée lors de la phase de sortie du contrôle qualité à l'aide d'une série de calibreurs secondaires (« Working calibrator »).

Les « working calibrator » sont préparés et caractérisés conformément à un panel de sérums humains de référence, avec différents niveaux d'Ustekinumab.

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

Les réactifs doivent être conservés à une température comprise 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

L'échantillon consiste en du sérum obtenu à partir de sang prélevé par ponction veineuse et manipulé en prenant les précautions requises par les procédures standard de laboratoire. Selon la directive 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. Les conséquences de l'utilisation d'autres liquides biologiques ne sont pas connues.

Le sérum frais peut être conservé pendant 5 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C ; pour des périodes de conservation plus longues (5 mois au minimum), congeler à des températures ≤ -20 °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 décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage.

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

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

8. PROCÉDURE

Le test CHORUS Promonitor USTEKINUMAB (RÉF. 86712) 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 dosage du sérum examiné peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est $\geq 0,19$ µg/ml

NÉGATIF : lorsque le résultat est $\leq 0,10$ µg/ml

DOUTEUX : lorsque le résultat est compris entre 0,11 et 0,18 µg/ml

Des résultats douteux/équivoques sont obtenus en cas de valeurs comprises entre la limite de détection ($<0,10$ µg/ml) et la limite de quantification basse (0,19 µg/ml).

En cas de résultat douteux/ambigu, répéter le dosage. Si le résultat reste douteux/ambigu, répéter le prélèvement de sérum.

11. LIMITES

Ce dosage mesure l'UTK libre. Il ne mesure pas les immuno-complexes formés entre l'UTK et les anticorps anti-UTK.

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'UTK 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 : 0,10-33,0 µg/ml

Pour les échantillons $>33,0$ µg/ml, répéter le test en diluant l'échantillon dans un diluant de contrôle/échantillon négatif (RÉF. 83607- non fourni avec le kit).

13. INTERVALLE DE RÉFÉRENCE

Dans la population normale, les valeurs attendues, déterminées en examinant 120 sérums de donneurs sains, sont négatives, avec des valeurs de < 0,10 µg/ml.

14. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

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

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

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

3 échantillons Facteur rhumatoïde (FR) positifs (150 UI/ml (1) et 200 UI/ml (2)) ont été additionnés d'Ustekinumab.

Niveau élevé - 20,0 µg/ml

Niveau bas - 2,0 µg/ml

Négatif - < 0,10 µg/ml

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

15. RÉACTIONS CROISÉES

15 échantillons ont été testés, ne contenant pas d'Ustekinumab mais contenant de l'IFX (10,0 AU/ml) - 5 échantillons, ADL (27,0 µg/ml) - 5 échantillons et VDZ (65,5 µg/ml) - 5 échantillons. Aucune réaction croisée n'a été observée.

16. ÉTUDES COMPARATIVES

Dans un essai, 248 échantillons ont été analysés avec un kit Diesse et un kit ELISA Promonitor UTK.

Les données figurent dans le tableau suivant :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	96	0	96
	-	1	151	152
	Total	97	151	248

Taux de concordance positive (~ sensibilité diagnostique) :

99,0 % IC₉₅ % : 94,3-99,8

Taux de concordance négative (~ spécificité diagnostique) :

100,0% IC₉₅ % : 97,5-100,0

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

Valeur prédictive négative (NPV) : 99,3 % IC₉₅ % : 98,3-100,0

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

Sur les 248 échantillons, la corrélation entre le kit Diesse et un autre kit disponible sur le marché a été testée sur 97 échantillons positifs.

Les données figurent dans le tableau suivant :

Corrélation	r	IC 95 %
Pearson	0,95	0,92-0,97
Spearman	0,97	0,96-0,98

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	24,9	6,2	22,3	11,3
2	7,5	10,5	9,5	13,1
3	1,4	4,3	1,7	8,2
4	0,60	5,0	0,58	6,9
5	< 0,10	-	< 0,10	-
6	< 0,10	-	< 0,10	-

Échantillon	Entre les lots		Entre les instruments	
	Moyenne (µg/ml)	CV %	Moyenne (µg/ml)	CV %
1	22,4	13,7	23,7	13,6
2	7,3	13,7	8,6	15,0
3	1,6	5,0	1,9	11,1
4	0,58	13,8	0,60	11,7
5	< 0,10	-	< 0,10	-
6	< 0,10	-	< 0,10	-

18. LINÉARITÉ

La linéarité du test a été évaluée en utilisant 3 échantillons avec des concentrations connues d'Ustekinumab. Des dilutions en série ont été réalisées pour chaque échantillon, ce qui a démontré la linéarité de la méthode de 0,11 à 33,0 µg/ml.

19. BIBLIOGRAPHIE

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.
- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johans J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
- Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. 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 USTEKINUMAB

Apenas para uso diagnóstico *in vitro*

1. USO PRETENDIDO

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

O produto, utilizado em combinação com outros resultados clínicos e laboratoriais, é útil como auxiliar na gestão de doentes tratados com Ustekinumab (UTK), tais como doentes com doença inflamatória intestinal (DII) e doenças reumáticas.

Só deve ser utilizado por técnicos profissionais de laboratório.

2. INTRODUÇÃO

Ustekinumab (UTK) é um anticorpo monoclonal IgG1 kappa totalmente humano que se liga com alta afinidade à subunidade p40 da interleucina humana (IL) 12 e IL23 e foi aprovado para o tratamento de doentes com doença de Crohn moderada a grave (DC), colite ulcerativa moderada a grave (UC), artrite psoriásica e psoríase em placas. O medicamento impede a bioatividade de IL12 e de IL23, ligando e neutralizando a subunidade p40 partilhada, impedindo a interação com a proteína recetora de superfície celular IL12Rbeta1. No contexto da doença inflamatória intestinal (IBD), MC e UC, o regime de tratamento começou com uma dose única de carga e um regime de manutenção com administração subcutânea padrão a cada 8 semanas. Estudos clínicos mostram que 2,9% a 12,4% dos doentes desenvolvem anticorpos anti-Ustekinumab (ATU) ao longo do tempo. Por conseguinte, é importante monitorizar as concentrações séricas de UTK para correlacionar os níveis de fármaco com a perda de resposta à terapia e a ocorrência de eventos adversos tais como a doença do soro e as reações de hipersensibilidade. Atualmente, a quantificação do Ustekinumab é realizada juntamente com a avaliação da imunogenicidade para a ATU.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

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

O teste é baseado num método ELISA em ponte.

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

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

com HRP (conjugado). Uma segunda fase de incubação permite que o conjugado se ligue ao UTK 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 UTK 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 µg/ml.

4. PRECAUÇÕES

APENAS PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

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

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

Informação sobre saúde e segurança

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e proteção para os olhos ao manusear as amostras.
3. Lavar muito bem as mãos após colocação dos dispositivos no instrumento CHORUS TRIO.
4. Em relação às características de segurança dos reagentes contidos no kit, consultar a Ficha de Segurança (disponível 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 infetado têm de ser imediatamente removidos com papel absorvente, sendo também necessário descontaminar a área poluída com hipoclorito de sódio a 1%, por exemplo, antes de prosseguir o trabalho. Se estiver presente ácido no derramamento, secar a área afetada antes de usar hipoclorito de sódio. Todos os materiais utilizados para descontaminar eventuais derramamentos, incluindo luvas, devem ser eliminados como resíduos potencialmente infetados. Não meter na autoclave material que contenha hipoclorito de sódio.

Advertências analíticas

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

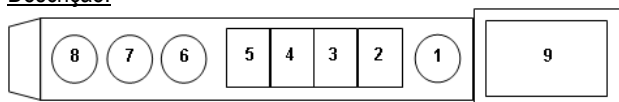
1. **Eliminar os dispositivos com substrato (poço 2) azul.**
2. Se a amostra for adicionada ao poço manualmente, verificar que esteja perfeitamente distribuída.
3. Verificar a presença efetiva dos reagentes no dispositivo e a integridade do próprio dispositivo. Não utilizar dispositivos que, após verificação 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
[\(https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/\)](https://www.diesse.it/en/downloads/downloads/strumento:39/)
5. Certificar-se de que o instrumento CHORUS TRIO está bem configurado (ver o 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 36 determinações.

DD DISPOSITIVOS 6 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

Revestido com anticorpo monoclonal humano anti-UTK 0,5 µg/mL

Posição 6: POÇO DE MICROPLACA

Revestido com anticorpo monoclonal humano anti-UTK 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 (concentração máxima 0,0625 µg/mL), em tampão com conservante

Posição 3: TAMPÃO DE DILUIÇÃO

Conteúdo: solução tampão que contém conservante

Posição 2: SUBSTRATO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina estabilizada em tampão citrato

Posição 1: POÇO VAZIO

onde transferir a amostra.

Uso: equilibrar um invólucro à temperatura ambiente, abrir o invólucro e retirar os dispositivos necessários. Repor os restantes dentro do invólucro que contém gel de sílica, deixar sair o ar e **selar** exercendo pressão sobre o fecho. Conservar a 2/8 °C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0,650 ml

Conteúdo: Soro humano que contém UTK (concentração 30 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 UTK (concentração 30 ng/mL) e conservante BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano) 1000-1150 ppm.

Líquido, pronto a usar.

A fiabilidade das medições do Calibrador e o Controlo positivo é garantida pela cadeia de rastreabilidade descrita abaixo.

O calibrador e o Controlo Positivo são produzidos a partir de uma amostra humana com concentração conhecida de Ustekinumab diluída para atingir uma concentração teórica de anticorpos, cujo intervalo é dependente do lote e é atribuído durante a fase de libertação do controlo de qualidade utilizando uma série de calibradores secundários ("Working calibrator").

Os "Working calibrator" são preparados e caracterizados de acordo com um painel de soros humanos de referência com diferentes níveis de Ustekinumab.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS QUE NÃO FORAM FORNECIDOS

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

6. MODO DE CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8 °C. Em caso de temperatura de conservação incorreta, é necessário

repetir a calibração e verificar a exatidão do resultado através do soro de controlo (ver capítulo 9: Validação do teste).

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

Após abertura os reagentes têm estabilidade limitada:

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

7. RECOLHA E CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS

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

De acordo com as linhas de orientação 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. Não são conhecidas as consequências provocadas pelo uso de outros líquidos biológicos.

O soro fresco pode ser conservado durante 5 dias entre 2 e 8 °C; para períodos de conservação mais prolongados, congelar a ≤ -20 °C (durante, pelo menos, 5 meses).

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

É fortemente recomendado evitar qualquer tratamento intensivo de amostras.

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

8. PROCEDIMENTO

O teste CHORUS Promonitor USTEKINUMAB (REF. 86712) pode ser realizado simultaneamente SOMENTE com os outros testes CHORUS Promonitor.

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

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

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

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

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

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

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

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

10. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

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

POSITIVO: quando o resultado for $\geq 0,19$ U/L

NEGATIVO: quando o resultado for $\geq 0,10$ U/L

DUVIDOSO: quando o resultado está entre 0,11 e 0,18 µg/ml

São obtidos resultados duvidosos/equívocos quando os valores estão na faixa entre o limite de deteção ($<0,10$ µg/ml) e o limite de quantificação baixo (0,19 µg/ml).

Se o resultado for dúbio/equívoco, repetir o teste. Se o resultado continuar dúbio/equívoco, repetir a colheita de soro.

11. LIMITAÇÕES

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

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 UTK 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: 0,10-33,0 µg/ml

Para amostras $> 33,0$ 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 $<0,10$ AU/ml.

14. ESPECIFICIDADE ANALÍTICA

Foram testadas 3 amostras (1 Negativa, 1 Pouco Positiva e 1 Altamente Positiva) às quais foram adicionados os seguintes interferentes:

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

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

Às 3 amostras positivas de Fator Reumatóide (RF) (150 IU/ml (1) e 200 IU/ml (2)) foi adicionado Ustekinumab.

Nível elevado - 20,0 µg/ml

Nível Baixo - 2,0 µg/ml

Negativo - < 0,10 µg/ml

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

15. REAÇÕES CRUZADAS

Foram 15 amostras, que não continham Ustekinumab mas com IFX (10,0 µg/ml) - 5 amostras, ADL (27,0 µg/ml) - 5 amostras e VDZ (65,5 µg/ml) - 5 amostras

Não foram detetadas reações cruzadas significativas.

16. ESTUDOS DE COMPARAÇÃO

Numa experiência foram analisadas 248 amostras com um kit Diesse e com kit Promonitor UTK ELISA.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	96	0	96
	-	1	151	152
	Total	97	151	248

Percentagem de concordância positiva (~ sensibilidade diagnóstica):

99,0% IC_{95%}: 94,3-99,8

Percentagem de concordância negativa: (~ especificidade diagnóstica):

100,0% IC_{95%}: 97,5-100,0

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

Valor Preditivo Negativo (VPN): 99,3% IC_{95%}: 98,3-100,0

O grau de concordância entre os dois métodos é ótimo com valor de K (Coeficiente de Cohen) igual a 1,0.

Das 248 amostras, em 97 amostras positivas foi testada a correlação entre o kit Diesse e outro kit disponível no mercado.

Os dados estão resumidos na tabela seguinte:

Correlação	r	IC 95%
Pearson	0,95	0,92-0,97
Spearman	0,97	0,96-0,98

A correlação entre os dois métodos é muito elevada.

17. PRECISÃO E REPETIBILIDADE

Amostra	Dentro da sessão	Entre sessões
---------	------------------	---------------

	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	24,9	6,2	22,3	11,3
2	7,5	10,5	9,5	13,1
3	1,4	4,3	1,7	8,2
4	0,60	5,0	0,58	6,9
5	< 0,10	-	< 0,10	-
6	< 0,10	-	< 0,10	-

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (µg/ml)	CV%	Média (µg/ml)	CV%
1	22,4	13,7	23,7	13,6
2	7,3	13,7	8,6	15,0
3	1,6	5,0	1,9	11,1
4	0,58	13,8	0,60	11,7
5	< 0,10	-	< 0,10	-
6	< 0,10	-	< 0,10	-

18. LINEARIDADE

A linearidade do teste foi avaliada usando 3 amostras com concentrações conhecidas de Ustekinumab. Foram realizadas diluições em série para cada amostra, o que demonstrou a linearidade do método de 0,11 a 33,0 AU/ml.

19. BIBLIOGRAFIA

- Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.
- Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johanns J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
- Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
- Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
- Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
- CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. 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.



INSTRUCȚIUNI DE UTILIZARE

COR Promonitor USTEKINUMAB

Numai pentru diagnosticare *in vitro*

1. UTILIZAREA PRECONIZATĂ

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

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

Acesta trebuie utilizat numai de către tehnicienii profesioniști de laborator.

2. INTRODUCERE

Ustekinumab (UTK) este un anticorp monoclonal IgG1 kappa complet uman care se leagă cu afinitate ridicată de subunitatea p40 a interleukinei umane (IL) 12 și IL23 și care a fost aprobat pentru tratamentul pacienților cu boala Crohn (CD), moderată până la severă, cu colită ulcerativă severă (CU), artrită psoriazică și psoriazis în plăci. Medicamentul previne bioactivitatea IL12 și IL23 prin legarea și neutralizarea subunității p40 partajate, prevenind interacțiunea cu proteina receptor de pe suprafața celulară IL12Rbeta1. În cazul bolilor inflamatorii intestinale (IBD), MC și UC, regimul de tratament a început cu o singură doză de încărcare și cu un regim de menținere cu administrare subcutanată standard la fiecare 8 săptămâni. Studiile clinice arată că 2,9% până la 12,4% dintre pacienți dezvoltă în timp anticorpi anti-Ustekinumab (ATU). Prin urmare, este important să se monitorizeze concentrațiile minime de UTK serice pentru a corela nivelurile medicamentului cu pierderea răspunsului la terapie și cu apariția evenimentelor adverse, cum ar fi boala serică și reacțiile de hipersensibilitate. În prezent, cuantificarea Ustekinumab este efectuată împreună cu evaluarea imunogenicității pentru ATU.

3. PRINCIPIUL METODEI

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

Testul se bazează pe o metodă ELISA cu punte.

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

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

După spălarea pentru eliminarea conjugatului nelegat, se adaugă substratul de peroxidază. Reacția enzimatică este întreruptă prin adăugarea soluției de stopare, care îngălbenește soluția.

Culoarea care se dezvoltă este proporțională cu cantitatea de UTK prezentă în proba pacientului.

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

Rezultatele sunt exprimate în µg/ml.

4. MĂSURI DE PRECAUȚIE

NUMAI PENTRU DIAGNOSTICARE *IN VITRO*

Acest kit conține materiale de origine umană care au fost testate și au generat un răspuns negativ pentru prezența HbsAg și pentru anticorpii împotriva HIV-1, HIV-2 și HCV. Deoarece niciun test de diagnosticare nu poate oferi o garanție completă privind absența agenților infecțioși, orice material de origine umană trebuie să fie considerat potențial infectat. Respectați toate măsurile de precauție adoptate în mod normal în practica de laborator atunci când manipulați material de origine umană.

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

Informații privind sănătatea și siguranța

1. Nu pipetați cu gura.
2. În timpul manipulării probelor, purtați mănuși de unică folosință și ochelari de protecție.
3. Spălați-vă bine pe mâini după introducerea dispozitivelor în instrumentul CHORUS TRIO.
4. În ceea ce privește caracteristicile de siguranță ale reactivilor conținuți în kit, consultați Fișa cu date de securitate (disponibile la adresa DIESSE: www.diesse.it).
5. Acizii neutralizați și alte deșeuri lichide trebuie dezinfectate prin adăugarea de hipoclorit de sodiu în volum suficient pentru a obține o concentrație finală de cel puțin 1%. Pentru a asigura o dezinfectare eficientă, ar putea fi necesară o expunere de 30 de minute la hipoclorit de sodiu 1%.
6. Eventuale scurgeri de materiale potențial infectate trebuie îndepărtate imediat cu hârtie absorbantă, iar zona afectată trebuie decontaminată, de exemplu cu soluție de hipoclorit de sodiu de 1%, înainte de a continua activitatea. Dacă scurgerea conține un acid, uscați zona contaminată înainte de a utiliza hipocloritul de sodiu. Toate materialele utilizate pentru decontaminarea eventualelor scurgeri, inclusiv mănușile, trebuie eliminate ca deșeuri potențial infecțioase. Nu așezați în autoclavă materiale care conțin hipoclorit de sodiu.

Avertismente analitice

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

1. **Aruncați dispozitivele cu substrat (godeul 2) colorat în albastru.**
2. Dacă proba este adăugată manual în godeu, verificați să fie distribuită perfect.
3. Verificați prezența reală a reactivilor în dispozitiv și integritatea dispozitivului în cauză; nu utilizați dispozitive în

cazul cărora, la inspecția vizuală, rezultă lipsa unor reactivi și/sau corpuri străine în godeul de reacție.

4. Dispozitivele trebuie utilizate împreună cu instrumentul CHORUS TRIO, respectând cu strictețe Instrucțiunile de utilizare și Manualul de utilizare al instrumentului.

Utilizarea kitului este posibilă numai cu CHORUS TRIO cu o versiune actualizată a software-ului. Asigurați-vă că software-ul instalat pe instrument este o versiune (Ver.) corespunzătoare sau ulterioară celei prezentate în tabelul publicat pe site-ul Diesse

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

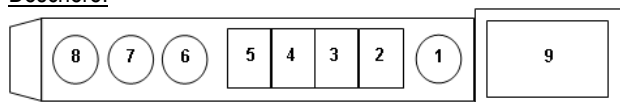
5. Verificați dacă instrumentul CHORUS TRIO este setat corect (consultați Manualul de utilizare aferent).
6. Nu modificați codul de bare situat pe mânerul dispozitivului pentru a permite citirea corectă a acestuia de către instrument.
7. Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor.
8. Eventualele coduri de bare defecte pot fi introduse manual în instrument (vezi Manualul de utilizare al CHORUS TRIO).
9. În cazul utilizării instrumentului CHORUS Autosampler (REF 81210), consultați Manualul de utilizare corespunzător.
10. Nu expuneți dispozitivele la lumină puternică sau vapori de hipoclorit în timpul depozitării și utilizării.
11. Nu utilizați probe hemolizate, lipemice, icterice, cu o concentrație de interferenți mai mare decât cea testată (conform indicațiilor din capitolul „Specificitate analitică”).
12. Nu utilizați dispozitivul după data de expirare.
13. Verificați dacă instrumentul este conectat la tamponul de spălare de autoimunitate (Ref. 86004).

5. ALCĂTUIREA KIT-ULUI ȘI PREPARAREA REACTIVILOR

Kit-ul este suficient pentru 36 de determinări

DD DISPOZITIVE 6 pachete a câte 6 dispozitive fiecare

Descriere:



Poziția 9: Spațiu disponibil pentru eticheta cu codul de bare

Poziția 8: TAMPON DE DILUARE

Conținut: soluție tampon care conține conservant

Poziția 7: GODEU MICROPLACĂ

Acoperit cu anticorp monoclonal uman anti-UTK 0,5 µg/mL

Poziția 6: GODEU MICROPLACĂ

Acoperit cu anticorp monoclonal uman anti-UTK 0,5 µg/mL

Poziția 5: SOLUȚIE DE STOPARE

Conținut: soluție de acid sulfuric 0,3 M.

Poziția 4: CONJUGAT

Conținut: Anticorp anti-UTK marcat cu HRP (concentrație maximă 0,0625 µg/m) în tampon care conține conservant

Poziția 3: TAMPON DE DILUARE

Conținut: soluție tampon care conține conservant

Poziția 2: SUBSTRAT TMB

Conținut: Tetrametilbenzidina stabilizată în tampon citrat.

Poziția 1: GODEU GOL

În care trebuie transferată proba.

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

CALIBRATOR

1 x 0,650 ml

Conținut: Ser uman care conține UTK (concentrație 30 ng/mL) și conservant BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm. Lichid, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 1,100 ml

Conținut: Ser uman care conține UTK (concentrație 30 ng/mL) și conservant BND (5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxan) 1000-1150 ppm. Lichid, gata de utilizare.

Fiabilitatea măsurătorilor calibratorului și controlului pozitiv este garantată de lanțul de trasabilitate descris mai jos.

Calibratorul și controlul pozitiv sunt produse dintr-o probă umană cu concentrație cunoscută de Ustekinumab diluat pentru a atinge o anumită concentrație de anticorpi, al cărei interval depinde de lot și care este atribuit în timpul fazei de eliberare a controlului de calitate cu ajutorul unei serii de calibroare secundare („Working calibrator”).

„Calibratoarele de lucru” sunt preparate și caracterizate în funcție de un panel de seruri umane de referință cu diferite niveluri de Ustekinumab.

ALTE MATERIALE NECESARE DAR NELIVRATE:

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

6. MODALITATEA DE PĂSTRARE ȘI STABILITATEA REACTIVILOR

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

Reactivii au o stabilitate limitată după deschidere:

DISPOZITIVE

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

7. COLECTAREA ȘI DEPOZITAREA PROBELOR

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

În conformitate cu ghidul CLSI H18-A3, probele de ser pentru analiză trebuie să fie coagulate înainte de centrifugare; coagularea spontană și completă are loc în mod normal în 30-60 de minute la 22°C-25°C. Se recomandă separarea fizică a serului, prin centrifugare, de contactul cu celulele cât mai curând posibil, cu o limită maximă de timp de 2 ore de la momentul recoltării. Nu sunt cunoscute consecințele utilizării altor lichide biologice.

Serul proaspăt se poate păstra timp de 5 zile la 2/8°C; pentru perioade mai lungi de depozitare, congelați la ≤ -20 °C (timp de cel puțin 5 luni).

Proba poate fi supusă până la maximum 3 decongelări. Evitați utilizarea de congelatoare cu sistem automat de decongelare pentru păstrarea probelor. După decongelare, agitați proba cu atenție înainte de dozare.

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

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

8. PROCEDURA

Testul CHORUS Promonitor USTEKINUMAB (REF. 86712) poate fi efectuat simultan NUMAI cu celelalte teste CHORUS Promonitor.

1. Deschideți plicul (latura pe care se află elementul de închidere prin apăsare), luați un număr de dispozitive necesar pentru a efectua examinările și păstrați-le pe celelalte închizând la loc plicul după ce scoateți aerul din interior.
2. Controlați vizual starea dispozitivului conform cu indicațiile din capitolul 4 Avertismente analitice.
3. Distribuți în godeul nr. 1 al fiecărui dispozitiv:

PROBĂ	130 μl/dispozitiv
CALIBROR	130 μl/dispozitiv
CONTROL POZITIV	130 μl/dispozitiv

La fiecare schimbare a lotului, utilizați un dispozitiv pentru calibror.

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

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizați controlul pozitiv pentru a verifica corectitudinea rezultatelor obținute, procesându-l după cum este indicat în Manualul de utilizare al instrumentului. Dacă instrumentul indică un control pozitiv cu o valoare în afara limitei admisibile, trebuie să refaceți calibrarea. Rezultatele anterioare sunt corectate automat.

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

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

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

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

Testul efectuat pe serul examinat poate fi interpretat după cum urmează:

POZITIV: când rezultatul este $\geq 0,19$ μ g/ml

NEGAT: când rezultatul este $\leq 0,10$ μ g/ml

ÎNDOIELNIC: când rezultatul este cuprins între 0,11 și 0,18 μ g/ml

Se obțin rezultate îndoielnice/echivoce în cazul valorilor care se încadrează în intervalul cuprins între limita de detecție ($<0,10$ μ g/ml) și limita inferioară de cuantificare (0,19 μ g/ml).

În cazul unui rezultat ambiguu / echivoc, repetați testul. Dacă rezultatul rămâne ambiguu / echivoc, repetați prelevarea serului.

11. LIMITELE TESTULUI

Această dozare măsoară UTK liber. Nu măsoară complexe imune formate între anticorpii UTK și anticorpii anti-UTK.

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

Medicul trebuie să interpreteze rezultatele în contextul altor variabile, cum ar fi fereastra de eșantionare, metodologia, nivelurile de UTK și alte constatări clinice, cum ar fi activitatea bolii.

Caracteristicile de performanță ale dozării nu au fost determinate pentru alte matrici decât serul.

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

12. INTERVAL DE CALIBRARE

interval de calibrare: 0,10-33,0 μ g/ml

Pentru probe $> 33,0$ μ g/ml, repetați testul diluând proba cu Negative Control/Sample Diluent (REF 83607 - nu este furnizat împreună cu kitul).

13. INTERVAL DE REFERINȚĂ

La populația normală, valorile așteptate, determinate prin examinarea a 120 de seruri de la donatori sănătoși, sunt negative, cu valori $<0,10$ μ g/ml.

14. SPECIFICITATE ANALITICĂ

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

Bilirubină (4,5 mg/dl – 45 mg/dl)
Trigliceride (250 mg/dl – 1500 mg/dl)
Hemoglobină (2,5 mg/ml – 10 mg/ml)

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

3 probe pozitive cu factor reumatoid (RF) (150 UI/ml (1) și 200 UI/ml (2)) au fost îmbogățite cu Ustekinumab.

Nivel ridicat – 20,0 μ g/ml

Nivel scăzut – 2,0 μ g/ml

Negativ – $< 0,10$ μ g/ml

Prezența RF în serul testat nu modifică rezultatul testului.

15. REACȚII ÎNCRUCIȘATE

Au fost testate 15 probe, care nu conțin Ustekinumab, dar conțin IFX (10,0 μ g/ml) – 5 probe, ADL (27,0 μ g/ml) – 5 probe și VDZ (65,5 μ g/ml) – 5 probe

Nu au fost detectate reacții încrucișate.

16. STUDII COMPARATIVE

În cadrul unui experiment au fost analizate 248 de probe cu un kit Diesse și cu un kit Promonitor UTK ELISA.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Diesse		Referință		
		+	-	Total
		96	0	96
Diesse	+	96	0	96
	-	1	151	152
Total		97	151	248

Procentul de concordanță pozitivă (~ sensibilitate diagnostică): 99,0% CI_{95%}: 94,3-99,8

Procentul de concordanță negativă: (~ specificitatea diagnosticului):

100,0% CI_{95%}: 97,5-100,0

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

Valoarea predictivă negativă (NPV): 99,3% CI_{95%}: 98,3-100,0

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

Din cele 248 de probe, la 97 de probe pozitive a fost testată corelația dintre kitul Diesse și un alt kit disponibil în comerț.

Datele sunt prezentate pe scurt în tabelul de mai jos:

Corelație	r	IC 95%
Pearson	0,95	0,92-0,97
Spearman	0,97	0,96 - 0,98

Corelația dintre cele două metode este foarte mare.

17. PRECIZIE ȘI REPETABILITATE

Probă	În timpul ședinței		Între sesiuni	
	Medie (μg/ml)	CV%	Medie (μg/ml)	CV%
1	24,9	6,2	22,3	11,3
2.	7,5	10,5	9,5	13,1
3	1,4	4,3	1,7	8,2
4	0,60	5,0	0,58	6,9
5	<0,10	-	<0,10	-
6	<0,10	-	<0,10	-

Probă	Între loturi		Între instrumente	
	Medie (μg/ml)	CV%	Medie (μg/ml)	CV%
1	22,4	13,7	23,7	13,6
2.	7,3	13,7	8,6	15,0
3	1,6	5,0	1,9	11,1
4	0,58	13,8	0,60	11,7
5	<0,10	-	<0,10	-
6	<0,10	-	<0,10	-

18. LINEARITATE

Linearitatea testului a fost evaluată folosind 3 probe cu concentrații cunoscute de Ustekinumab. Au fost efectuate diluții

în serie pentru fiecare probă, care au demonstrat linearitatea metodei de la 0,11 la 33,0 μg/ml.

19. BIBLIOGRAFIE

1. Lucas Guillo, Ferdinando D'Amico, Silvio Danese, Laurent Peyrin-Biroulet "Ustekinumab for Extra-intestinal Manifestations of Inflammatory Bowel Disease: A Systematic Literature Review" J Crohns Colitis 2021 Jul 5;15(7):1236-1243.
2. Sands BE, Sandborn WJ, Panaccione R, O'Brien CD, Zhang H, Johanns J, Adedokun OJ, Li K, Peyrin-Biroulet L, Van Assche G, Danese S, Targan S, Abreu MT, Hisamatsu T, Szapary P, Marano C; "Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis". N Engl J Med. 2019 Sep 26;381(13):1201-1214.
3. Restellini S, Khanna R, Afif W. "Therapeutic Drug Monitoring With Ustekinumab and Vedolizumab in Inflammatory Bowel Disease." Inflamm Bowel Dis. 2018 Sep 15;24(10):2165-2172.
4. Klenske E, Osaba L, Nagore D, Rath T, Neurath MF, Atreya R. Drug Levels in the Maternal Serum, Cord Blood and Breast Milk of a Ustekinumab-Treated Patient with Crohn's Disease. J Crohns Colitis. 2019 Feb 1;13(2):267-269.
5. Martín-González S, Urigoitia-Ugalde P, Careaga J, Nagore D, Navarro R, Izu-Belloso R, Blanch L, González Del Tánago J, Martínez A, Ruiz Del Agua A. Optimal concentration range of ustekinumab in patients with plaque-type psoriasis. J Am Acad Dermatol. 2019 Jun;80(6):1782-1784.
6. CLSI H18-A3 Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline — Third Edition. Vol. 24 No. 38

20. RAPORTAREA INCIDENTELOR

În cazul în care a avut loc un incident grav în legătură cu acest dispozitiv pe teritoriul Uniunii Europene, vă rugăm să îl raportați fără întârziere producătorului și autorității competente din statul membru în care vă aflați.

	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 GR PT PL RO	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Należy zapoznać się z instrukcją obsługi Pentru utilizare consultați instrucțiunile
	EN IT DE ES 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 Skenneichnung 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