



# Quantum Blue<sup>®</sup> Adalimumab

Ilościowy Test  
przepływu bocznego

Do diagnostyki *in vitro*

LF-TLAD25 25 testów

LF-TLAD10 10 testów

Data wydania: 2023-04-28  
Wersja A4

---

 **Producent**

**BÜHLMANN Laboratories AG**

Baselstrasse 55

4124 Schönenbuch, Szwajcaria

Tel.: +41 61 487 12 12

Faks: +41 61 487 12 34

info@buhlmannlabs.ch



## PRZEZNACZENIE

Quantum Blue® Adalimumab jest testem immunologicznym do diagnostyki *in vitro* do ilościowego oznaczania minimalnych poziomów adalimumabu w próbkach surowicy. Test służy jako pomoc w terapeutycznym monitorowaniu leków u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit NZJ (ang. Inflammatory bowel disease; IBD) w trakcie terapii adalimumab w połączeniu z wynikami badań klinicznych i laboratoryjnych. Quantum Blue® Adalimumab jest połączony z czytnikiem Quantum Blue® Reader.

Tylko do użytku laboratoryjnego.

## ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Niniejszy test pozwala na selektywny pomiar adalimumab za pomocą immunologicznego testu podwójnego wiązania typu „kanapkowego” (ang. sandwich immunoassay). Rekombinowany czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF $\alpha$ ) sprzężony jest ze złotem koloidalnym. Podczas aplikowania odpowiednio przygotowanej próbki na kasetki testowe z płytki do systemu reakcyjnego uwalniany jest koniugat. Adalimumab obecny w próbce wiąże się z koniugatem złota. Wysoce specyficzne względem adalimumabu przeciwciała monoklonalne jest unieruchomione na membranie analitycznej i wychwytuje kompleks koniugatu złota i analitu adalimumabu, co w rezultacie powoduje zabarwienie linii testowej (T). Pozostały niezwiązany koniugat TNF $\alpha$  wiąże się w obrębie linii kontrolnej (C). Intensywność sygnału linii testowej (T) oraz linii kontrolnej (C) są mierzone ilościowo za pomocą czytnika Quantum Blue® Reader.

## DOSTARCZONE ODCZYNNIKI I ICH PRZYGOTOWANIE

Odczynniki	Ilość		Kod produktu	Komentarz
	LF-TLAD25	LF-TLAD10		
Kasetki testowe	25 sztuk	10 sztuk	B-LFTLAD-TC	Próżniowo zamknięte w woreczkach foliowych
Bufor rozcieńczający	1 butelka 10 mL	1 butelka 10 mL	B-LFTLAD-CB	Gotowy do użycia
Kontrole Niska* / Wysoka*	2 fiołki 0.5 mL	2 fiołki 0.5 mL	B-LFTLAD-CONSET	Gotowy do użycia
Karta RFID	1 sztuka	1 sztuka	B-LFTLAD-RCC	Biała plastikowa karta RFID
Karta RFID	1 sztuka	1 sztuka	B-LFTLAD-RCC15	Zielona plastikowa karta RFID
Karta Kodu kreskowego	1 sztuka	1 sztuka	B-LFTLAD-BCC	Plastikowa karta kodu kreskowego 2D

Tabela 1

\* Kontrole z odpowiednim numerem partii zawierają określoną ilość adalimumabu. Rzeczywiste wartości stężeń umieszczone są w dodatkowym arkuszu danych QC.

## SPRAWDZENIE ZESTAWU TESTOWEGO

Produkty BÜHLMANN zostały wyprodukowane z największą starannością i dołożono wszelkich starań, aby zapewnić kompletność zestawu testowego oraz prawidłowe jego działanie. Niemniej jednak radzimy zweryfikować zestaw testowy pod kątem stanu kasety testowej i jej torebki w oparciu o następujące kryteria:

- Termin ważności
- Nienaruszony stan torebki (np. brak jakiegokolwiek perforacji, która mogłaby być spowodowana niewłaściwą obsługą).
- Nienaruszony stan kasetki testowej (np. brak rys na membranie analitycznej).

Jeżeli jedna z kaset testowych nie spełnia powyższych kryteriów, należy użyć innej kasety testowej.

## PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ ODCZYNNIKÓW

Zamknięte odczynniki	
Przechowywać w temperaturze 2-8 °C. Nie używać odczynników po upływie daty ważności wydrukowanej na etykietach.	
Otwarte odczynniki	
Kasetki testowe	Kasetki testowe wyjęte z torebki foliowej należy zużyć w ciągu 4 godzin.
Bufor rozcieńczający	Po otwarciu przechowywać do 6 miesięcy w temperaturze 2-8 °C.
Kontrole Niska / Wysoka	Po otwarciu przechowywać do 6 miesięcy w temperaturze 2-8 °C.

Tabela 2

## NIEZBĘDNE MATERIAŁY, KTÓRE NIE ZOSTAŁY DOSTARCZONE

- Wytrząsarka Vortex
- Czasomierz (opcjonalny)
- Automatyczne pipety z jednorazowymi końcówkami: 10-100  $\mu$ L i 100-1000  $\mu$ L
- Probówki typu Eppendorf (lub równorzędne) do rozcieńczania próbek surowicy
- Czytnik Quantum Blue® Reader dostępny u BÜHLMANN (kod produktu: BI-POCTR-ABS)
- Jednorazowe rękawiczki oraz fartuch laboratoryjny

## ŚRODKI OSTROŻNOSCI

### Środki ostrożności

- Żaden z odczynników tego zestawu nie zawiera składników pochodzenia ludzkiego.
- Próbki pacjentów powinny być traktowane jako potencjalnie zakaźny materiał biologiczny. W związku z tym bezwzględnie wymagane jest użycie odpowiednich środków ostrożności zgodnych z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej (GLP).
- Kontrole i bufor rozcieńczający znajdujące się w zestawie zawierają składniki sklasyfikowane zgodnie z Rozporządzeniem (WE) nr 1272/2008: chlorowodorek 2-metylo-4-izotiazolin-3-onu (stęż.  $\geq 0,0015\%$ ), z tego względu odczynniki mogą powodować alergiczne reakcje skórne (H317).

- Unikać kontaktu ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku kontaktu, natychmiast przemyć dużą ilością wody; w przeciwnym razie może wystąpić podrażnienie.
- Utylizacja nieużytych odczynników powinna odbywać się zgodnie z lokalnymi i ogólnokrajowymi przepisami.

### **Techniczne środki ostrożności**

#### **Elementy zestawu**

- Test należy przeprowadzić w temperaturze pokojowej (16-28 °C).
- Wszystkie odczynniki, w tym kasetki testowe w torebkach foliowych i próbki testowe muszą zostać doprowadzone do temperatury pokojowej przed rozpoczęciem testu.
- Przed wykonaniem testu należy wyjąć kasetkę testową z worka foliowego w celu osiągnięcia temperatury pokojowej przez co najmniej 2 minuty. Kasetki testowe wyjęte z worka foliowego należy zużyć w ciągu 4 godzin.
- Przed użyciem odczynników należy je dobrze wymieszać (np. za pomocą vortexu).
- Nie należy stosować odczynników po upływie terminu ich ważności, który umieszczony jest na opakowaniu.
- Nie mieszać odczynników o różnym numerze partii.
- Nie demontować kasetek testowych.
- Kasetki testowe nie mogą być używane powtórnie.
- Należy ostrożnie obchodzić się z kasetkami testowymi. Nie zanieczyszczać dołka do nałożenia próbki oraz okienka testowego poprzez kontakt ze skórą, innymi płynami itd. (Ryc. 1).
- Podczas wykonywania testu konieczne jest płaskie i poziome położenie kasetki testowej.

#### **Procedura testowa**

- Przed rozpoczęciem testu należy uważnie przeczytać instrukcję. Wydajność testu zostanie zaburzona w przypadku nieprawidłowego rozcieńczania oraz stosowania i przechowywania w warunkach innych niż określone w niniejszej instrukcji.
- Należy pamiętać, że istnieją dwie generacje czytników: Quantum Blue® Reader 2. generacji z numerami seryjnymi od 1000 do 3000 (QB2) oraz Quantum Blue® Reader 3. generacji z numerami seryjnymi powyżej 3000 (QB3G).
- QB2 musi być włączony i zaprogramowany do testu Quantum Blue® Adalimumab. Przed rozpoczęciem testu (patrz instrukcja czytnika Quantum Blue® Reader) wczytaj metodę testu za pomocą karty chipowej RFID (B-LFTLAD-RCC lub B-LFTLAD-RCC15).
- QB3G musi być włączony i zaprogramowany do testu Quantum Blue® Adalimumab a pomocą karty z kodem kreskowym (B-LFTLAD-BCC) lub wybierając z menu testu (tylko tryb Fast Track). Więcej informacji można znaleźć w instrukcji czytnika Quantum Blue® Reader.
- Należy użyć kartę chipową RFID (QB2)/ karty z kodem kreskowym (QB3G), aby zmienić parametry testu specyficzne dla partii.
- Niewłaściwe postępowanie z próbkami pacjentów może wpływać na otrzymanie niedokładnych wyników.
- Rozcieńczone próbki powinny być przechowywane w temperaturze 2-8 °C i mierzone w ciągu 24 godzin.

Rozcieńczone próbki nie mogą być przechowywane przez dłuższy czas.

- Próbki powyżej 35 µg/mL (do 500 µg/mL) można dodatkowo rozcieńczyć 1:20 buforze rozcieńczającym (łącznie 1:400) w celu uzyskania wyników mieszczących się w zakresie pomiarowym testu.

### **POBIERANIE PRÓBEK I ICH PRZECHOWYWANIE**

Unikając hemolizy, pobrać próbkę do niezawierającej żadnych dodatków probówki próżniowej. Wykonaj separację surowicy w sposób określony przez producenta. Przeniesie surowicę. Nierozcieńczone próbki surowicy mogą być przechowywane w lodówce w temperaturze 2-8 °C przez maksymalnie 14 dni. W przypadku konieczności dłuższego przechowywania, nierozcieńczone próbki surowicy należy przechowywać w temperaturze ≤-20 °C. Próbki te są stabilne do 52 miesięcy w temperaturze ≤-20 °C.

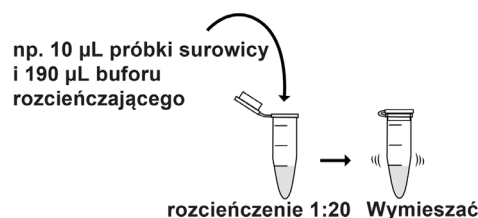
### **PROCEDURA WYKONANIA TESTU**

Do wykonania testu należy używać wyłącznie odczynników, które wcześniej zostały doprowadzone do temperatury pokojowej (16-28 °C). Przed rozpoczęciem testu, kasetę testową należy wyjąć z foliowego worka.

Procedura wykonania testu składa się z dwóch etapów:

#### **1. Rozcieńczanie próbek surowicy z buforem rozcieńczającym**

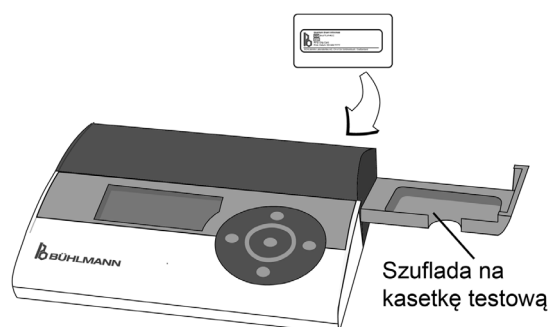
Przed pomiarem w osobnej probówce należy rozcieńczyć próbkę surowicy z z buforem rozcieńczającym (B-LFTLAD-CB) w stosunku 1:20 (np. 10 µL próbki surowicy i 190 µL buforu rozcieńczającego). Wymieszać składniki poprzez worteksowanie, pipetowanie lub wytrząsanie.



#### **2. Procedura i odczyt testu przepływu bocznego**

##### **QB2**

Dwie alternatywne metody pomiaru mogą zostać wczytane z odpowiednich kart: B-LFTLAD-RCC15 z wewnętrznym zegarem) lub B-LFTLAD-RCC (bez wewnętrznego zegara). Wybierz jedną z kart chipowych RFID przed rozpoczęciem eksperymentów. Wczytaj metodę testową z karty chipowej RFID do czytnika Quantum Blue® Reader.



## QB3G

Dostępne są dwa różne tryby pracy do pomiaru próbek za pomocą QB3G: tryb szybkiego pomiaru lub tryb awaryjny. Przed przystąpieniem do wykonywania testu prosimy o informację, w jakim trybie pracy pracuje Państwa czytnik. Metodę testu można wczytać z karty z kodem kreskowym (tryb Fast Track i Fail Safe) lub, jeśli była wcześniej używana, należy wybrać z menu testu (tylko tryb Fast Track). Pomiar można wykonywać z wbudowanym zegarem lub bez niego w trybie Fast Track. Pomiar w trybie awaryjnym mogą być wykonywane tylko z wewnętrznym zegarem. Postępuj zgodnie z instrukcjami wyświetlanymi na ekranie QB3G. Możesz również zapoznać się z szybkimi przewodnikami QB3G dotyczącym trybu Fast Track i Fail Safe Mode



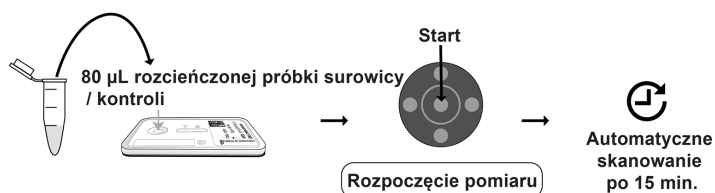
### 2.1. Metoda z wewnętrznym zegarem

**QB2:** użyj zielonej karty chipowej B-LFTLAD-RCC15

**QB3G (tryb szybkiej ścieżki ang. Fast Track Mode):** gdy QB3G poprosi o pominięcie czasu inkubacji, wybierz „NO“ (Nie)

**QB3G (tryb awaryjny ang. Fail Safe Mode):** ustawienie domyślne

- Rozpakuj kasetkę testową. Pozostaw kasetkę testową do zrównoważenia w środowisku laboratoryjnym przez co najmniej 2 minuty.
- Dodaj 80 µL rozcieńczonej próbki surowicy do portu ładowania próbki w kasetce testowej (rysunek 1D).
- Włóż kasetkę testową do uchwytu na kasetkę testową czytnika Quantum Blue® Reader.
- Zamknij uchwyt kasetki testowej i rozpocznij pomiar, naciskając przycisk start na QB2 lub opcję „Start Measurement“ (Rozpocznij pomiar) na QB3G.
- Skanowanie rozpocznie się automatycznie po 15 minutach.
- Dla kontroli o niskim/wysokim poziomie: Powtórz krok 2.1, używając 80 µL kontroli zamiast rozcieńczonej surowicy.



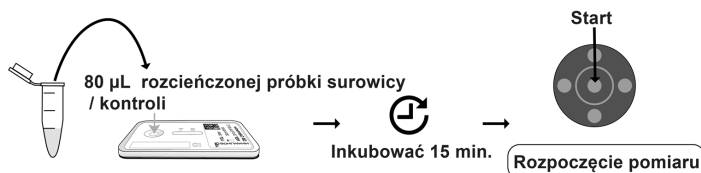
### 2.2. Metoda bez wewnętrznego zegara

**QB2:** Użyj białej karty chipowej B-LFTLAD-RCC

**QB3G (tryb szybkiej ścieżki ang. Fast Track Mode):** gdy QB3G poprosi o pominięcie czasu inkubacji, wybierz „YES“ (Tak)

**QB3G (tryb awaryjny ang. Fail Safe Mode):** opcja niedostępna

- Rozpakuj kasetkę testową. Pozostaw kasetkę testową, w celu doprowadzenia do temperatury pokojowej przez co najmniej 2 minuty.
- Dodaj 80 µL rozcieńczonej próbki surowicy do portu ładowania próbki w kasetce testowej (rysunek 1D).
- Inkubuj przez 15 ± 1 minutę (ustaw zegar ręcznie).
- Włóż kasetkę testową do uchwytu na kasetkę testową czytnika Quantum Blue® Reader.
- Natychmiast zeskanuj kasetkę testową czytnikiem Quantum Blue® Reader, naciskając przycisk start na QB2 lub opcję „Start Measurement“ (Rozpocznij pomiar) na QB3G.
- W przypadku kontroli o niskim/wysokim poziomie: Powtórz krok 2.2, używając 80 µL kontroli zamiast rozcieńczonej surowicy.



**Uwaga:** Proszę zapoznać się z instrukcją obsługi czytnika Quantum Blue® Reader w celu zaznajomienia się z podstawowymi funkcjami inicjowania i obsługi sprzętu. Istotny jest zwłaszcza sposób wyboru metody badań oraz wczytywania parametrów partii produktu przy pomocy karty RFID (QB2) / karta z kodem kreskowym (QB3G) w czytniku Quantum Blue® Reader. Należy upewnić się, że kasetka testowa została prawidłowo umieszczona w czytniku (tj. okienkiem odczytu w kierunku czytnika) (Ryc. 1D)

## KONTROLA JAKOSCI

- Jeżeli dokładność testu nie koreluje ze zdefiniowanymi standardami parametrów pomiaru, a wyniki powtórzenia oznaczenia wykluczają błędy techniczne, należy sprawdzić następujące kwestie: i) pipetę, urządzenie do kontrolowania temperatury i pomiaru czasu ii) datę ważności odczynników iii) warunki przechowywania i inkubacji.
- Wynik auto-testu wykonywanego przez czytnik Quantum Blue® Reader po uruchomieniu musi być prawidłowy.

## STANDARYZACJA I ZGODNOŚĆ METROLOGICZNA

- Wartości kalibratorów dla krzywej kalibracyjnej przypisano zgodnie z wartościami protokołu (ref. 1). Kalibratory zawierają adalimumab w ludzkiej surowicy.
- Quantum Blue® Adalimumab jest standaryzowany względem międzynarodowego standardu WHO dla adalimumabu (kod 17/236). Wartość materiału odniesienia jest przekazywana do kalibratorów produktu, co pozwala na generowanie wyników badań zgodnych ze standardem. 95% przedział ufności łącznej niepewności kalibratorów produktu jest niższy niż 20,0%, łącznej niepewności kontroli jest niższa niż 25,0%.
- Czytnik Quantum Blue® Reader oblicza stężenie wykorzystując krzywą wzorcową dla kalibratorów o

określonych numerach partii. Zakres testu mieści się w granicy od 1,3 do 35,0 µg/mL.

## WALIDACJA WYNIKÓW

- Dla uznania oznaczenia za poprawne na kasetkach zawsze widoczna powinna być linia kontrolna, której pozycja oznaczona jest literą „C” (Ryc. 1A i 1B). Jest ona używana wyłącznie jako kontrola i nie może być ona wykorzystana do interpretacji linii testowej (T). W przypadku gdy linia testowa (T) jest niewykrywalna po upływie 15 minut inkubacji (Ryc. 1A) oznacza to, że stężenie adalimumab w próbce surowicy jest poniżej granicy wykrywalności. Jeśli linia testowa (T) jest wykrywalna po 15 minutach czasu inkubacji (Ryc. 1B), stężeni adalimumab obecne w próbce surowicy jest obliczane przez Quantum Blue® Reader.
- Jeżeli po upływie 15 minut inkubacji widoczna jest tylko linia testowa (T) (Ryc. 1C), wynik testu jest nieważny i test Quantum Blue® Adalimumab należy powtórzyć przy użyciu nowej kasetki testowej.
- Jeżeli po upływie 15 minut inkubacji niewykrywalna jest linia kontrolna (C) i linia testowa (T) (Ryc. 1D) , wynik testu jest nieważny i test Quantum Blue® Adalimumab należy powtórzyć przy użyciu nowej kasetki testowej.
- Czytnik Quantum Blue® Reader umożliwia wykonanie ilościowej oceny linii testowej (T) oraz linii kontrolnej (C) i przeprowadza dodatkową weryfikację linii kontrolnej (C). Jeżeli intensywność linii kontrolnej (C) po 15 minutach inkubacji jest mniejsza od wartości progowej, wynik testu jest nieważny i test Quantum Blue® Adalimumab należy powtórzyć przy użyciu nowej kasetki testowej.

## OGRANICZENIA

- Odczynniki w niniejszym zestawie zostały zoptymalizowane dla pomiaru stężenia adalimumab w rozcieńczonych próbkach surowicy.
- Próbkki od pacjentów, którzy zmienili leczenie z certolizumabu (Cimzia®) nie powinny być testowane bezpośrednio za pomocą Quantum Blue® Adalimumab, ponieważ może wystąpić reaktywność krzyżowa. Pozwól, aby poziomy minimalne certolizumabu (Cimzia®) spadły co najmniej poniżej 2,9 µg/mL.
- Wyniki testu Quantum Blue® Adalimumab należy interpretować w połączeniu z innymi wynikami badań klinicznych i laboratoryjnych. Mogą one obejmować określenie aktywności choroby NZJ, obecność przeciwciał przeciwciekowych, a także informacje o przestrzeganiu terapii przez pacjenta (ref. 2).
- Minimalne poziom Adalimumab pomiędzy 5 a 12 µg/mL mieszczą się w zakresie okna terapeutycznego dla najlepszej skuteczności leczenia ednak optymalne poziomy minimalne mogą być indywidualne i mogą się różnić w zależności od celu leczenia, a także fenotypu choroby (ref. 2).

## OCZEKIWANE WYNIKI

Oznaczanie minimalnych stężeń adalimumabu w próbkach surowicy pacjentów może pomóc w monitorowaniu terapii pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit. Generalnie minimalne poziomy w surowicy, które osiągają wartość 5 µg/mL i więcej, podczas podtrzymywania terapii, dobrze

korelują z remisją kliniczną (ref. 3, 4), niskimi wartościami CRP, jak również endoskopowym gojeniem błony śluzowej jelita (ref. 5,6). Wykazano plateau remisji endoskopowej dla minimalnych stężeń adalimumabu powyżej 12 µg/mL (ref. 6).

### Wartości poniżej 5 µg/mL

Subterapeutyczne stężenie adalimumab w surowicy sugerują niepowodzenie farmakokinetyczne. Należy rozważyć dostosowanie terapii, biorąc po uwagę dostępne wyniki kliniczne i laboratoryjne (ref. 2).

### Wartości między 5 – 12 µg/mL

Minimalne stężenie terapeutyczne adalimumab mogą służyć jako wskazanie do kontynuacji terapii dotychczasową dawką u pacjentów z remisją choroby NZJ (ref. 2).

### Wartości powyżej 12 µg/mL

Minimalne stężenie supratherapeutyczne adalimumab mogą służyć jako wskazanie do zmniejszenia dawki w połączeniu z obrazem klinicznym u pacjentów z remisją choroby NZJ (ref. 2).

## CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI

Poniższe parametry wydajności zostały ustalone dla czytnika Quantum Blue® Reader 2. generacji i zostały zweryfikowane na czytniku Quantum Blue® 3. Reader generacji.

Podane charakterystyki wydajności dotyczą obu generacji czytników.

### Porównanie metod

**Odchylenie przy 5 µg/mL: 0,3% (95% CI: -8,1 – 6,8%)**

**Odchylenie przy 12 µg/mL: 13,8% (95% CI: 7,9 – 21,7%)**

Badanie porównawcze metod przeprowadzono zgodnie z wytycznymi CLSI EP09-A3. Sto trzydzieści (130) próbek klinicznych oraz syntetycznych (3.1% wszystkich próbek) zmierzono w trzech powtórzeniach przy użyciu testu Quantum Blue® Adalimumab, uzyskując 390 wartości oraz za pomocą komercyjnie dostępnego testu ELISA adalimumab (ref. 7). Pomiary wykonano w ciągu czterech dni z wykorzystaniem kasetek testowych Quantum Blue® Adalimumab o dwóch różnych numerach seryjnych. Wyniki przedstawiono na rycinie 2.

### Odzysk: 80 – 90%

Do sześciu próbek klinicznych, w tym stężeń adalimumab w pobliżu klinicznych punktów decyzyjnych, dodano 5,44 µg/mL adalimumab w materiale kalibracyjnym opartym na surowicy. Do próbek "baseline" dodano odpowiednią objętość próbki wolnej od analitu. Próbkki "baseline" i "baseline+spike" mierzono w dziesięciu powtórzeniach przy użyciu jednej partii odczynników. Wyniki przedstawiono w tabeli 3.

### Powtarzalność: 16,6 – 28,6% CV

### Precyzja wewnątrzlaboratoryjna: 19,1 – 29,9%CV

Powtarzalność i precyzję wewnątrzlaboratoryjną ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3 przy użyciu standardowego projektu badania 20 dni x 2 przebiegi x 2 powtórzenia. Przebadano cztery połączone próbki surowicy pacjentów ze stężeniami adalimumabu obejmującymi zakres pomiarowy testu i kliniczne punkty decyzyjne. Wyniki podsumowano w tabeli 4.

## **Odtwarzalność: 25,6 – 26,1% CV**

Odtwarzalność ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP05-A3, wykonując pomiary przy użyciu 3 operatorów x 3 przyrządy/partie x 5 dni x 5 powtórzeń projektu badania. Przebadano cztery połączone próbki surowicy pacjentów ze stężeniami adalimumabu obejmującymi zakres pomiarowy testu i kliniczne punkty decyzyjne. Wyniki podsumowano w tabeli 5.

## **Limit of Detection (LoD): 0,8 µg/mL**

LoD ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP17-A2 i przy proporcji wyników fałszywie dodatnich ( $\alpha$ ) poniżej 5% i fałszywie ujemnych ( $\beta$ ) poniżej 5% na podstawie 120 oznaczeń, 60 oznaczeń ślepej próby i 60 powtórzeń niskiego stężenia; i **LoB 0,2 µg/mL**.

## **Lower Limit of Quantitation (LLoQ): 1,3 µg/mL**

## **Upper Limit of Quantitation (ULoQ): 35,0 µg/mL**

LLoQ i ULoQ ustalono zgodnie z wytycznymi CLSI EP17-A2 na podstawie odpowiednio 90 i 75 oznaczeń oraz względnego całkowitego błędu docelowego wynoszącego 30.0%.

## **Zakres liniowości: 1,0 – 35,0 µg/mL**

Zakres liniowości testu Quantum Blue® Adalimumab został określony zgodnie z wytycznymi CLSI EP06-A. Dwie pule próbek, niska i wysoka, zostały zmieszane w celu uzyskania 15 poziomów stężeń pokrywających i wykraczających poza oczekiwany zakres pomiarowy testu. Zmieszane próbki oznaczano w 10 powtórzeniach za pomocą kasetek testowych o dwóch różnych numerach partii. Zakres liniowości określono jako przedział stężeń, dla którego współczynniki dopasowania nieliniowego drugiego i trzeciego rzędu określono jako nieistotne. Wyniki podsumowano na rycinie 3.

Próbki o podwyższonych stężeniach adalimumabu (do 500 µg/mL) można dodatkowo rozcieńczyć w buforze rozcieńczającym w stosunku 1:20 (łącznie 1:400), tak aby uzyskać liniowe wyniki w zakresie pomiarowym testu. Seria próbek z poziomem adalimumabu pomiędzy 7 a 800 µg/mL została przygotowana poprzez zmieszanie próbki syntetycznej o wysokim poziomie adalimumabu z surowicą negatywną. Próbki rozcieńczono dwukrotnie w buforze rozcieńczającym w stosunku 1:20 i zmierzono w pięciu powtórzeniach przy pomocy testu Quantum Blue® Adalimumab. Określono zakres liniowy dla adalimumabu o stężeniach między 7 a 502 µg/mL.

## **Wysoka dawka „efekt haka“**

Nie zaobserwowano efektu haka przy wysokich dawkach dla próbek ze stężeniami adalimumabu do 787 µg/mL.

## **Leki biopodobne**

Test Quantum Blue® Adalimumab w szczególności rozpoznaje oryginalny lek adalimumab (Humira®) a także biopodobne do adalimumabu Hyrimoz® (Adalimumab adaz) w surowicy. Odzysk wartości Hyrimoz® w porównaniu z wartościami oczekiwanymi, opartymi na oznaczeniu stężenia leków IgG i współczynnika rozcieńczenia w surowicy ujemnej, wyniósł od 80,1% do 118,9%.

## **SUBSTANCJE INTERFERUJĄCE**

Wrażliwość testu Quantum Blue® Adalimumab na substancje interferujące oceniono zgodnie z zatwierdzoną przez CLSI wytyczną EP7-A2. Substancje interferujące badano w stężeniach trzykrotnie wyższych niż te zgłaszane

lub oczekiwane w próbkach klinicznych lub w stężeniach zalecanych w wytycznych CLSI EP07-A2. Odchylenie przekraczające 30% uznano za interferencję.

## **Rozdział Wewnętrzny-klasowy**

Blokery TNF $\alpha$  testowano w stężeniach trzykrotnie przekraczających najniższe zalecane minimalne poziomy leku. Nie stwierdzono interferencji względem następujących substancji w wymienionych stężeniach: infliksymab (Remicade®, 10 µg/mL), i golimumab (Simponi®, 10 µg/mL). Interferencję wykryto w przypadku etanerceptu (Enbrel®) z 95% przedziałem ufności dla interferencji przekraczającej dopuszczalne odchylenie przy 2,7 µg/mL. Próbki od pacjentów zmieniających leczenie z certolizumabu (Cimzia®) nie powinny być bezpośrednio badane przy użyciu testu Quantum Blue® Adalimumab. Minimalne poziomy certolizumabu (Cimzia®) powinny spaść co najmniej poniżej 2,9 µg/mL.

## **Indeksy surowicy**

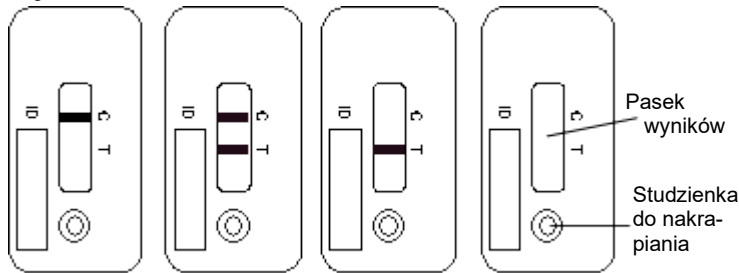
Nie wykryto interferencji z następującymi substancjami do wymienionych stężeń: triglicerydy (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalent to 37 mmol/L triglicerydy), bilirubina sprzężona (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirubina niezwiązana (342 µmol/L; 20 mg/dL), hemoglobina (200 mg/dL), TNF $\alpha$  (5,0 ng/mL) i czynniki reumatoidalne (823 IU/mL).

## **Leczenie immunosupresyjne**

Nie wykryto interferencji z lekami immunosupresyjnymi, takimi jak azatiopryna (60 µmol/L, 3 µg/mL), 6-merkaptopuryna (37 µmol/L, 2 µg/mL), i metotreksat (1363 µmol/L, 68 µg/mL).

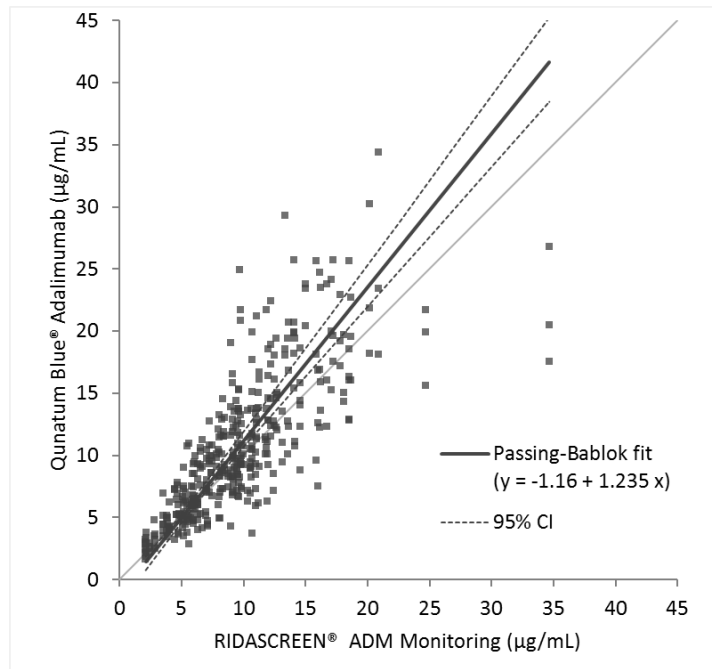
## TABELE I RYCINY

### Wyniki testu



Rycina 1A Rycina 1B Rycina 1C Rycina 1D

### Porównanie metod



Rycina 2

### Odzysk

Próbka	Base [µg/mL]	Spike [µg/mL]	Oczekiwane Base + Spike [µg/mL]	Uzyskane Base + Spike [µg/mL]	Odzysk [%]
S1	2,6	5,44	8	6,7	83
S2	4,6	5,44	10,1	9	89
S3	5,2	5,44	10,7	8,6	80
S4	8,1	5,44	13,5	11,1	82
S5	8,5	5,44	13,9	12,5	90
S6	12,2	5,44	17,6	15,2	86

Tabela 3

### Powtarzalność/ Wewnętrzna precyzja

Średnie stężenie ADA [µg/mL]	Powtarzalność CV [%]	Precyzja między próbami CV [%]	Precyzja między dniami testowania CV [%]	Wewnętrzna precyzja CV [%]
2,0	18,7	3,4	1,6	19,1
6,6	16,6	12,6	0,0	20,9
9,4	17,8	7,3	1,1	19,3
22,7	28,6	3,6	8,0	29,9

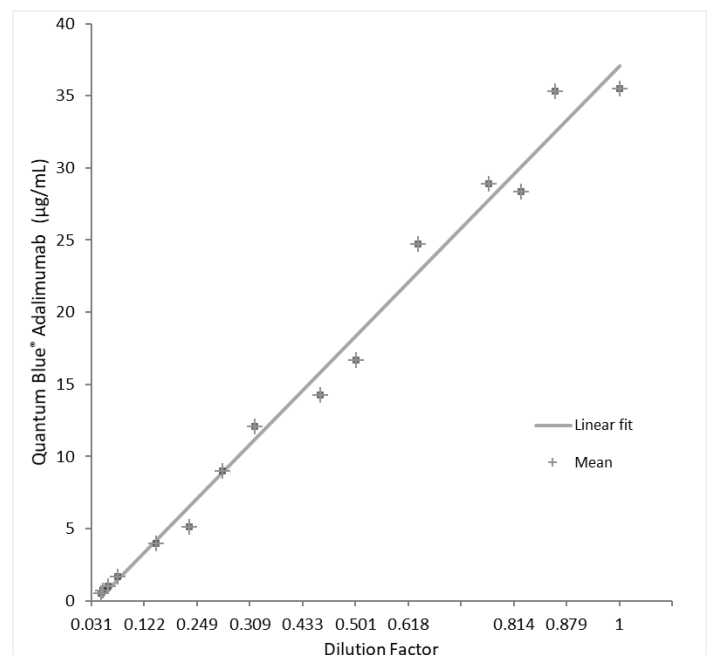
Tabela 4

### Odtwarzalność

Średnie stężenie ADA [µg/mL]	Precyzja między analizami CV [%]	Precyzja między dniami testowymi CV [%]	Precyzja między seriami/ analizatora mioperatorami CV [%]	Wewnętrzna precyzja CV [%]
2,5	19,6	0,0	16,5	25,6
7,6	19,8	7,3	14,8	25,8
10,3	21,6	0,0	14,7	26,1
25,1	23,5	2,2	10,6	25,9

Tabela 5

### Wykres liniowości



Rycina 3



## REFERENCJE

---

1. Blirup-Jensen et al. : *Protein standardization V: value transfer. A practical protocol for the assignment of serum protein values from a Reference Material to a Target Material*. Clin Chem Lab Med; 46, 1470 – 9 (2008)
2. Mitrev N et al. : *Review article : consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumor necrosis factor therapy in inflammatory bowel disease*. Aliment Pharmacol Ther. 46(11-12):1037-1053 (2017)
3. Mazor Y et al. : *Adalimumab drug and antibody levels as predictors of clinical and laboratory response in patients with Crohn's disease*. Aliment Pharmacol Ther. 40: 620–628 (2014)
4. Bodini G et al. : *Adalimumab trough serum levels and anti-adalimumab antibodies in the long-term clinical outcome of patients with Crohn's disease*. Scand J Gastroenterol. 51(9):1081-6 (2016)
5. Roblin X et al. : *Association Between Pharmacokinetics of Adalimumab and Mucosal Healing in Patients With Inflammatory Bowel Diseases*. Clin Gastroenterol Hepatol. 12(1):80-84 (2014)
6. Ungar B. et al. : *Optimizing Anti-TNF- $\alpha$  Therapy: Serum Levels of Infliximab and Adalimumab Are Associated With Mucosal Healing in Patients With Inflammatory Bowel Diseases*. Clin Gastroenterol Hepatol. 4, 550-557 (2016)
7. Bian S. et al. : *Generation and characterization of a unique panel of anti-adalimumab specific antibodies and their application in therapeutic drug monitoring assays*. J Pharm Biomed Anal. 125:62-7 (2016)

---

## **RAPORTOWANIE WYPADKÓW W PAŃSTWACH CZŁONKOWSKICH UE**

W przypadku wystąpienia jakiegokolwiek poważnego wypadku z udziałem tego urządzenia, należy bezzwłocznie zgłosić to producentowi i właściwemu organowi państwa członkowskiego.

---

## **USZKODZENIA PRZESYŁKI**

Jeżeli produkt został uszkodzony należy poinformować o tym dystrybutora.

**LISTA ZMIAN**

<b>Data</b>	<b>Wersja</b>	<b>Zmiana</b>
2023-04-28	A4	Usunięcie leków biopodobnych w rozdziale <i>Przeznaczenie</i> . Aktualizacja rozdziału <i>Środki ostrożności</i> Aktualizacja rozdziału <i>Pobieranie próbek i ich przechowywanie</i> Dodanie podrozdziału <i>Leki biopodobne</i> i aktualizacja / uproszczenie rozdziału <i>Charakterystyka wydajności</i> Aktualizacja rozdziału <i>Symbole</i> Włączenie numeru jednostki notyfikowanej do znaku CE – procedura oceny zgodności wg IVDR 2017/746

## SYMBOLE

Firma BÜHLMANN stosuje symbole i oznaczenia wymienione i opisane w normie ISO 15223-1. Dodatkowo stosowane są następujące symbole i oznaczenia:

Symbol	Wyjaśnienie
TC	Kasetki testowe
BUF CHASE	Bufor rozcieńczający (ang. chase buffer)
CONTROL L	Kontrola niska
CONTROL H	Kontrola wysoka
RCC	Karta RFID
BCC	Karta z kodem kreskowym

