



# Quantum Blue<sup>®</sup> Anti-Infliximab

Qualitative  
Lateral Flow Assay

For *In Vitro* Diagnostic Use.

LF-ADIF25    25 tests  
LF-ADIF10    10 tests

Release date: 2021-05-03  
Version A3



## ENGLISH

### INTENDED USE

The Quantum Blue® Anti-Infliximab test is a qualitative *in vitro* diagnostic immunoassay for the detection of high anti-infliximab antibody titers in human serum samples. The test serves as an aid to therapeutic drug monitoring in patients with inflammatory bowel disease (IBD) and rheumatoid arthritis (RA) under infliximab therapy. The test is used in conjunction with other clinical and laboratory findings. Quantum Blue® Anti-Infliximab is combined with the Quantum Blue® Reader.

For laboratory use.

Europe: for professional use.

### PRINCIPLE OF THE ASSAY

The test is designed for the selective measurement of anti-infliximab antibodies by a sandwich immunoassay. The signal intensities of the test line (T) and the control line (C) are measured by the Quantum Blue® Reader. The results are reported as negative <neg(-)> or positive <pos(+)>.

### REAGENTS SUPPLIED AND PREPARATION

Reagents	Quantity		Code	Comments
	LF-ADIF25	LF-ADIF10		
Test Cassette	25 pieces	10 pieces	B-LFADIF-TC	Vacuum-sealed in a foil bag pouch
Chase Buffer	1 bottle 10 mL	1 bottle 10 mL	B-LFADIF-CB	Ready to use
Controls Low* / High*	2 vials, 0.1 mL	2 vials, 0.1 mL	B-LFADIF-CONSET	Dilute 1:10 in chase buffer before use
RFID Chip Card	1 piece	1 piece	B-LFADIF-RCC	White plastic card
RFID Chip Card	1 piece	1 piece	B-LFADIF-RCC15	Green plastic card
Barcode Card	1 piece	1 piece	B-LFADIF-BCC	2D Barcode plastic card

Table 1

\* Controls are lot-specific. The controls low and high should be reported as <neg(-)> and <pos(+)> respectively.

### CHECK YOUR TEST KIT

BÜHLMANN products have been manufactured with the greatest of care and all possible efforts have been taken to ensure completeness of this test kit and its performance. Nevertheless, we advise you to verify your test kit for the condition of the test cassette and its pouch based on the following criteria:

- Expiration date
- The fault-free condition of the pouch (e.g. absence of any perforation that could be caused by improper handling).
- The fault-free condition of the test cassette (e.g. absence of scratches on the analytical membrane).

Should one of the test cassettes not fulfil the criteria mentioned above, please use another test cassette.

### STORAGE AND SHELF LIFE OF REAGENTS

Unopened reagents	
Store at 2-8 °C. Do not use the reagents beyond the expiration date printed on the labels.	
Opened reagents	
Test Cassette	Test cassettes removed from the foil pouch must be used within 4 hours.
Chase Buffer	Store for up to 6 months at 2-8 °C after opening.
Controls Low / High	Store for up to 6 months at 2-8 °C after opening.

Table 2

### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Vortex mixer
- Timer (optional)
- Precision pipettes with disposable tips: 10-100 µL and 100-1000 µL
- Eppendorf tubes (or equivalent) for dilution of serum samples
- Quantum Blue® Reader available from BÜHLMANN (order code: BI-POCTR-ABS)
- Gloves and laboratory coat

### PRECAUTIONS

#### Safety precautions

- None of the reagents of this test contains components of human origin.
- Specimens should be handled as if capable of transmitting infections and should be handled in accordance with Good Laboratory Practice (GLP) using appropriate precautions.
- Reagents: Avoid contact of reagents with the skin, eyes, or mucous membranes. If contact does occur, immediately wash with generous amounts of water; otherwise, irritation can occur.
- Unused solution should be disposed according to local state and federal regulations.

#### Technical precautions

#### Kit components

- The test must be performed at room temperature (20-26 °C).
- All reagents and test samples must be equilibrated to room temperature before starting the assay.
- Once equilibrated to room temperature remove the test cassette from the foil pouch. Allow the test cassette to equilibrate in the laboratory environment for at least 2 minutes before starting the assay.
- Mix well (e.g. vortex) the reagents before use.
- Components must not be used after the expiration date printed on the labels.
- Do not mix different lots of reagents.
- Do not disassemble the test cassettes.
- Test cassettes cannot be re-used.
- Handle the test cassettes with care. Do not contaminate the sample loading port or read-out window via skin contact, other liquids, etc. (figure 1D).

- Ensure a flat, horizontal position of the test cassette while performing the assay.

### Test procedure

- Read the instructions carefully prior to carrying out the test. Test performance will be adversely affected, if reagents are incorrectly diluted, handled or stored under conditions other than those detailed in this instruction for use.
- Please note that there are two generations of readers: The Quantum Blue® Reader 2<sup>nd</sup> Generation with serial numbers between 1000 and 3000 (QB2) and Quantum Blue® Reader 3<sup>rd</sup> Generation with serial numbers above 3000 (QB3G).
- The QB2 must be switched on and programmed for the Quantum Blue® Anti-Infliximab assay. Load the assay method using the RFID chip card (B-LFADIF-RCC or B-LFADIF-RCC15) before starting the assay (see Quantum Blue® Reader manual).
- The QB3G must be switched on and programmed for the Quantum Blue® Anti-Infliximab assay either by using the barcode card (B-LFADIF-BCC) or by selecting from the test menu (Fast Track Mode only). For more information please refer to the Quantum Blue® Reader manual.
- Use the RFID chip card (QB2) / barcode card (QB3G) in order to change lot-specific test parameters.
- Samples that are not properly handled may cause inaccurate results.
- Diluted samples should be measured within 4 hours. For longer storage, keep diluted samples at 2-8 °C and measure within 24 hours.

## SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

Collect blood into plain venipuncture tubes without any additives and avoid hemolysis. Perform serum preparation according to manufacturer's instructions. Decant the serum.

Undiluted serum samples can be stored unrefrigerated (temperatures up to 28 °C) or at 2-8 °C for up to 15 days. For longer storage, keep undiluted serum samples at ≤-20 °C. The samples are stable for at least 3 months at ≤-20 °C. More than six freeze-thaw cycles should be avoided.

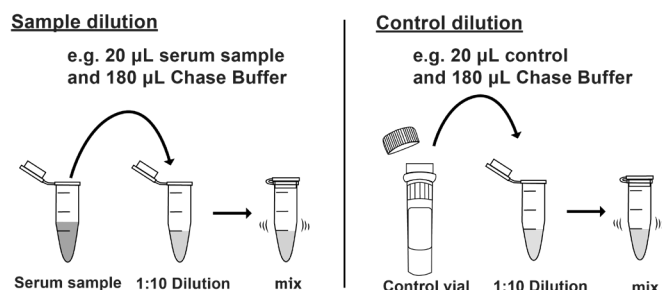
## ASSAY PROCEDURE

For the assay use only reagents equilibrated to room temperature. The test cassette must be removed from the foil pouch prior to assay start.

The assay procedure consists of two steps:

### 1. Dilution of serum samples and controls with chase buffer

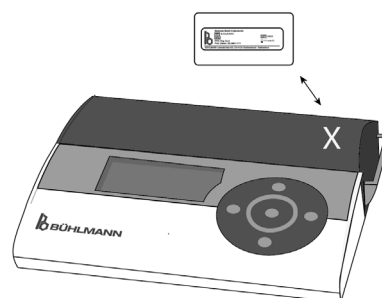
Prior to measurement dilute the serum sample and controls 1:10 with chase buffer (B-LFADIF-CB) (e.g. mix 20 µL serum sample or control with 180 µL chase buffer in a test tube) and mix it by vortexing, pipetting or shaking.



## 2. Lateral flow assay procedure and readout

### QB2

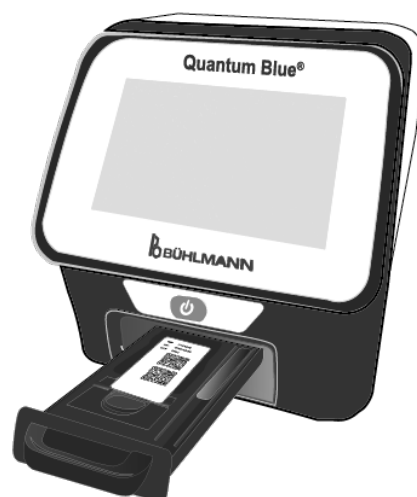
Two alternative methods can be loaded from the respective RFID chip card: B-LFADIF-RCC15 (with internal timer) or B-LFADIF-RCC (without internal timer). Select one of the RFID chip cards before starting the experiments. Load the test method from the RFID chip card on the Quantum Blue® Reader.



### QB3G

Two different modes of operation are available to measure samples with the QB3G: Fast Track Mode or Fail Safe Mode. Before starting the assay, please inform yourself in which operation mode your reader is working. The test method can be loaded from the barcode card (Fast Track and Fail Safe Mode) or, if previously used, selected from the test menu (Fast Track Mode only). Measurements can be performed with or without an internal timer in the Fast Track Mode. Measurements in the Fail Safe Mode can be performed with internal timer only.

Follow the instructions provided on the screen of the QB3G. You may also refer to the QB3G Quick Guides for the Fast Track and Fail Safe Mode.



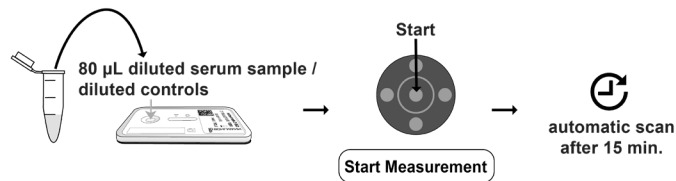
### 2.1. Method with internal timer

**QB2:** Use the green RFID chip card B-LFADIF-RCC15

**QB3G (Fast Track Mode):** when prompted by the QB3G to skip the incubation time, select “NO”

**QB3G (Fail Safe Mode):** default setting

- Unpack the test cassette. Allow the test cassette to equilibrate in the laboratory environment for at least 2 minutes.
- Add 80 µL of the diluted serum sample onto the sample loading port of the test cassette (figure 1D).
- Insert the test cassette into the test cassette holder of the Quantum Blue® Reader.
- Close the test cassette holder and start the measurement by pressing the start button on the QB2 or the “Start Measurement” option on the QB3G.
- The scan starts automatically after 15 minutes.
- For low / high controls: Repeat step 2.1 using 80 µL of diluted controls instead of diluted serum.



### 2.2. Method without internal timer

**QB2:** Use the white RFID chip card B-LFADIF-RCC

**QB3G (Fast Track Mode):** when prompted by the QB3G to skip the incubation time, select “YES”

**QB3G (Fail Safe Mode):** option not available

- Unpack the test cassette. Allow the test cassette to equilibrate in the laboratory environment for at least 2 minutes
- Add 80 µL of the diluted serum sample onto the sample loading port of the test cassette (figure 1D).
- Incubate for 15 ± 1 minute (set a timer manually).
- Insert the test cassette into the test cassette holder of the Quantum Blue® Reader.
- Scan the test cassette with the Quantum Blue® Reader immediately by pressing the start button on the QB2 or the “Start Measurement” option on the QB3G.
- For low / high controls: Repeat step 2.2 using 80 µL of diluted controls instead of diluted serum.



**Remark:** Please refer to your Quantum Blue® Reader manual to learn about the basic functions and how to initialize and operate the Quantum Blue® Readers, especially how to select test methods and how to load lot-specific parameters from the RFID chip card (QB2) / barcode card (QB3G) on the Quantum Blue® Reader. Ensure the correct insertion of the test cassette into the Quantum Blue® Reader, with the read-out window first (figure 1D).

## QUALITY CONTROL

- If the performance of the assay does not correlate with the established limits and repetition excludes errors in technique, check the following issues: *i)* pipetting, temperature controlling and timing *ii)* expiration dates of reagents and *iii)* storage and incubation conditions.
- Result of the self-test of the Quantum Blue® Reader performed at the startup of the instrument has to be valid.

## STANDARDIZATION

- The calibrator material is a monoclonal anti-infliximab human IgG antibody in a human serum matrix. The lot-specific standard curve parameters are indicated in the enclosed QC data sheet.
- The Quantum Blue® Reader uses a lot-specific calibration curve to calculate the anti-infliximab concentration in equivalents (µg<sub>eq</sub>/mL) to the monoclonal anti-infliximab IgG calibrator.
- The Quantum Blue® Reader indicates the result as negative <neg(-)>, if the sample concentration is below 1.3 µg<sub>eq</sub>/mL. Results equal to and above 1.3 µg<sub>eq</sub>/mL are indicated as positive <pos(+)>.

## VALIDATION OF RESULTS

- For a valid test result, the control line (C) must be visible in any case (see figure 1A and figure 1B). It is used as a functional test control only and cannot be used for the interpretation of the test line (T). If the test line (T) is not detectable after 15 minutes of incubation time (figure 1A), the concentration of anti-infliximab antibodies present in the serum sample is below the detection limit. If a test line (T) is detectable after 15 minutes of incubation time (figure 1B), the anti-infliximab antibody concentration present in the serum sample is calculated by the Quantum Blue® Reader.
- If only the test line (T) is detectable after 15 minutes of incubation time (figure 1C), the test result is invalid and the Quantum Blue® Anti-infliximab assay has to be repeated using another test cassette.
- If neither the control line (C) nor the test line (T) are detectable after 15 minutes of incubation time (figure 1D), the test result is invalid and the Quantum Blue® Anti-infliximab assay has to be repeated using another test cassette.
- As the Quantum Blue® Reader allows an evaluation of the test (T) and control (C) line, an additional validity check of the control line (C) is undertaken. If the signal intensity of the control line (C) is below a specific preconfigured threshold after 15 minutes of incubation time, the test result is also invalid and the Quantum Blue® Anti-infliximab assay has to be repeated using another test cassette.

## LIMITATIONS

- The Quantum Blue® Anti-Infliximab test is a drug-sensitive assay and therefore can only be used on samples with undetectable infliximab concentrations.

- The reagents supplied with this kit are optimized to measure levels of anti-infliximab antibodies in serum samples.
- Quantum Blue® Anti-Infliximab test results should be interpreted in conjunction with other clinical and laboratory findings. These may include the determination of disease activity, determination of infliximab trough levels, as well as information on patient's adherence to therapy.

## INTERPRETATION OF RESULTS

The Quantum Blue® Reader displays the following result categories for the Quantum Blue® Anti-Infliximab assay:

Display	Interpretation
neg(-)	Non-detectable or low anti-infliximab antibody titer
pos(+)	High anti-infliximab antibody titer

Table 3

## CUT-OFF ESTABLISHMENT

A cut-off of 1.3 µg<sub>eq</sub>/mL was established for the Quantum Blue® Anti-Infliximab assay to distinguish between negative and positive results. One hundred and nineteen (119) clinical serum samples, from patients under infliximab maintenance therapy were measured with the Quantum Blue® Anti-Infliximab assay and with a commercially available ELISA kit. A clinical cut-off established by Imbrechts et al. was used to determine negative and positive results for the reference ELISA test (ref. 1). The cut-off is comparable to the 8 µg/mL cut-off of the TAXIT trial assay (ref. 2), which was used to exclude patients with high anti-infliximab antibody levels from dose-optimization. The 1.3 µg<sub>eq</sub>/mL cut-off yielded 80.8% sensitivity and 94.9% specificity when compared to the reference ELISA method.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The following performance characteristics have been established with the Quantum Blue® Reader 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> Generation.

Indicated performance characteristics apply for both Reader generations.

### Method comparison

#### Assay agreement: 88%

One hundred and nineteen (119) clinical samples were measured with 2 lots of the Quantum Blue® Anti-Infliximab assay over 4 days, resulting in 238 values, out of which 102 were negative and 136 were positive. Mean reference values were established with a commercially available ELISA assay. These were classified as negative or positive based on the cut-off established by Imbrechts et. al. (ref 1). The total agreement of positive and negative values between both assays was calculated. The results are summarized in table 4.

### Within-laboratory precision:

#### 96.1% - 100% within-category

Repeatability and within-laboratory precision were established according to the CLSI guideline EP05-A3 using the standard 20 days x 2 runs x 2 replicates study design. Three (3) pooled serum samples: negative, close

to cut-off and positive, were assayed. The results are summarized in table 5.

### Reproducibility: 88% - 100% within-category

Reproducibility was established according to the CLSI guideline EP05-A3 using a 3 instruments/lots/operators x 5 days x 5 replicates study design. Three (3) pooled serum samples: negative, close to cut-off and positive, were assayed. The results are summarized in table 6.

### Limit of Detection (LoD): 0.7 µg<sub>eq</sub>/mL

The LoD was established according to the CLSI guideline EP17-A2 and with proportions of false positives (α) less than 5% and false negatives (β) less than 5% based on 120 determinations, with 60 blank and 60 low level replicates; and a LoB of 0.4 µg<sub>eq</sub>/mL.

### High dose hook effect

No negative results for contrived samples with theoretical anti-infliximab concentrations of up to 150 µg<sub>eq</sub>/mL were observed. The study was performed with two Quantum Blue® Anti-Infliximab lots.

## INTERFERING SUBSTANCES

The susceptibility of the Quantum Blue® Anti-Infliximab test to interfering substances was assessed according to the CLSI-approved guideline EP07-A2. Interfering substances were tested at concentrations three-fold higher than those reported or expected in clinical samples or at concentration levels recommended by the CLSI guideline EP07-A2. At least 7 replicates per interferent were tested. An out of category result for a single replicate was considered interference.

### TNFα blocker

TNFα blockers were tested at concentrations exceeding the lowest, recommended drug trough levels by three-fold. No interference was detected up to 15 µg/mL for adalimumab (Humira®). Interference was detected with the substance Infliximab (Remicade®, 10 µg/mL). The interference effect was further characterized by a dose response test. Results indicate that anti-infliximab presence can only be assessed in samples with undetectable infliximab levels.

### Serum indices

No interference was detected with the following substances, up to the listed concentrations: Triglycerides (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalent to 37 mmol/L triglyceride), conjugated bilirubin (342 µmol/L; 29 mg/dL), unconjugated bilirubin (342 µmol/L; 20.0 mg/dL), haemoglobin (200 g/L), and rheumatoid factors (796 IU/mL).

### Immunosuppressive and other medications

No interference was detected with the following substances, up to the listed concentrations: azathioprine (10.8 µmol/L, 3.0 µg/mL), 6-mercaptopurine (13.1 µmol/L, 2.0 µg/mL), and methotrexate (149.6 µmol/L, 68.0 µg/mL).

## ANWENDUNGSZWECK

Der Quantum Blue® Anti-Infliximab-Test ist ein qualitativer *in-vitro*-diagnostischer Immuntest für den Nachweis von hohen Anti-Infliximab-Antikörper-Titern in humanen Serumproben. Der Test dient als Hilfsmittel beim therapeutischen Drug Monitoring bei Patienten mit chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen (CED) und rheumatoider Arthritis (RA) unter Infliximab-Therapie. Der Test wird in Verbindung mit anderen klinischen und Laborbefunden verwendet. Quantum Blue® Anti-Infliximab wird mit dem Quantum Blue® Reader kombiniert.

Für den Laborgebrauch.

Europa: Für den professionellen Gebrauch.

## PRINZIP DER METHODE

Der Test nutzt die selektive Messung von Anti-Infliximab-Antikörpern mit einem Sandwich-Immunassay. Die Signalintensitäten der Testlinie (T) und Kontrolllinie (C) werden mit dem Quantum Blue® Reader gemessen. Die Ergebnisse werden als negativ <neg(-)> oder positiv <pos(+)> angegeben.

## GELIEFERTE REAGENZIEN UND VORBEREITUNG

Reagenz	Menge		Art-Nr.	Kommentar
	LF-ADIF25	LF-ADIF10		
Test-kassette	25 Stück	10 Stück	B-LFADIF-TC	In einem vakuumdichten Folienbeutel
Laufpuffer	1 Flasche 10 mL	1 Flasche 10 mL	B-LFADIF-CB	Gebrauchsfertig
Kontrollen Tief* / Hoch*	2 Fläschchen, 0,1 mL	2 Fläschchen, 0,1 mL	B-LFADIF-CONSET	Vor Gebrauch 1:10 in Laufpuffer verdünnen
RFID Chipkarte	1 Stück	1 Stück	B-LFADIF-RCC	Weisse Kunststoffkarte
RFID Chipkarte	1 Stück	1 Stück	B-LFADIF-RCC15	Grüne Kunststoffkarte
Barcode-karte	1 Stück	1 Stück	B-LFADIF-BCC	2D-Barcode-plastikkarte

Tabelle 1

\* Die Kontrollen sind chargenspezifisch. Die Kontrollen Tief und Hoch sollten als <neg(-)> bzw. <pos(+)> angegeben werden.

## ÜBERPRÜFUNG DES TESTKITS

Die BÜHLMANN Produkte wurden mit grösster Sorgfalt hergestellt und alle erdenklichen Anstrengungen wurden unternommen, um die Vollständigkeit dieses Kits und seine Leistung zu gewährleisten. Wir empfehlen Ihnen trotzdem, das Testkit hinsichtlich des Zustands der Testkassette und deren Verpackung auf den folgenden Kriterien zu überprüfen:

- Verfallsdatum
- Der fehlerfreie Zustand der Verpackung (z.B. keine Perforation, die durch falsche Handhabung verursacht worden sein könnte).
- Der fehlerfreie Zustand der Testkassette (z.B. keine Kratzer auf der analytischen Membran).

Wenn eine der Testkassetten die oben genannten Kriterien nicht erfüllt, so verwenden Sie bitte eine andere Testkassette.

## LAGERUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

Ungeöffnete Reagenzien	
Bei 2-8 °C aufbewahren. Die Reagenzien nicht über das Verfallsdatum hinaus, das auf den Etiketten aufgedruckt ist, verwenden	
Geöffnete Reagenzien	
Testkassette	Aus dem Folienbeutel entnommene Testkassetten müssen innerhalb von 4 Stunden verwendet werden.
Laufpuffer	Kann nach dem Öffnen bis zu 6 Monate lang bei 2-8 °C aufbewahrt werden.
Kontrollen Tief / Hoch	Kann nach dem Öffnen bis zu 6 Monate lang bei 2-8 °C aufbewahrt werden.

Tabelle 2

## ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Vortex Mischer
- Timer (optional)
- Präzisionspipetten mit Einwegspitzen: 10-100 µL und 100-1000 µL
- Eppendorf-Reaktionsgefässe (oder Gleichwertiges) zur Verdünnung der Serumproben
- Quantum Blue® Reader bei BÜHLMANN erhältlich (Art.-Nr.: BI-POCTR-ABS)
- Handschuhe und Labormantel

## VORSICHTSMASSNAHMEN

### Sicherheitsmassnahmen

- Keiner der Kitbestandteile enthält Material menschlicher Herkunft.
- Alle Proben sollten gemäss „Gute Laborpraxis“ (GLP) als potentiell infektiös behandelt werden und die entsprechenden Sicherheitsvorkehrungen sollten getroffen werden.
- Reagenzien: Kontakt der Reagenzien mit der Haut, den Augen oder den Schleimhäuten vermeiden. Im Falle eines Kontaktes sofort mit reichlich Wasser spülen, ansonsten kann eine Reizung auftreten.
- Ungebrauchte Lösungen sollten gemäss den gesetzlichen Bestimmungen entsorgt werden.

### Technische Vorsichtsmassnahmen

#### Kitkomponenten

- Der Test muss bei Raumtemperatur durchgeführt werden (20-26 °C).
- Alle Reagenzien und Testproben müssen vor dem Testbeginn auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Die Testkassette nach der Äquilibration auf Raumtemperatur aus dem Folienbeutel nehmen. Die Testkassette mindestens 2 Minuten lang in der Laborumgebung äquilibrieren lassen, bevor Sie mit dem Test beginnen.

- Die Reagenzien müssen vor Gebrauch gut gemischt werden (z.B. Vortexen).
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Unterschiedliche Reagenzien-Lots dürfen nicht gemischt werden.
- Die Testkassette darf nicht auseinander gebaut werden.
- Testkassetten können nicht erneut verwendet werden.
- Die Testkassetten müssen mit Vorsicht behandelt werden. Die Probenauftragsstelle oder das Messfenster der Probe darf nicht verunreinigt werden durch Hautkontakt, andere Flüssigkeiten usw. (Abbildung 1D).
- Die Testkassette muss bei der Durchführung des Tests eben und horizontal positioniert sein.

### Testablauf

- Lesen Sie die Testanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig durch. Die Leistungsdaten können negativ beeinflusst werden, wenn Reagenzien nicht korrekt verdünnt, behandelt oder unter Bedingungen gelagert werden, die von denen in der Arbeitsanleitung beschriebenen abweichen.
- Bitte beachten Sie, dass es zwei Generationen von Readern gibt: Den Quantum Blue® Reader der 2. Generation mit Seriennummern zwischen 1000 und 3000 (QB2) und den Quantum Blue® Reader der 3. Generation mit Seriennummern über 3000 (QB3G).
- Der QB2 muss vor Beginn des Tests eingeschaltet und für den Quantum Blue® Anti-Infliximab Test programmiert werden. Laden Sie die Testmethode mithilfe der RFID Chipkarte (B-LFADIF-RCC oder B-LFADIF-RCC15) bevor Sie den Test starten (siehe Handbuch des Quantum Blue® Readers).
- Der QB3G muss eingeschaltet und für den Quantum Blue® Anti-Infliximab Test programmiert werden, indem entweder die Barcodekarte (B-LFADIF-BCC) verwendet oder aus dem Testmenü (nur Fast Track Mode) ausgewählt wird. Weitere Informationen sind im Handbuch des Quantum Blue® Readers aufgeführt.
- Benutzen Sie die RFID Chipkarte (QB2) / Barcodekarte (QB3G), um die testspezifischen Parameter zu ändern.
- Unsachgemäße Handhabung der Proben können zu unbrauchbaren Resultaten führen.
- Verdünnte Proben sollten innerhalb von 4 Stunden gemessen werden. Bei längerer Lagerung die verdünnten Proben bei 2-8 °C aufbewahren und innerhalb von 24 Stunden messen.

### PROBENGEWINNUNG UND LAGERUNG

Blut in Venenpunktionsröhrchen ohne Zusatzstoffe/Additive sammeln und Hämolyse vermeiden. Die Serumaufbereitung gemäss den Anweisungen des Herstellers durchführen. Das Serum dekantieren. Unverdünnte Serumproben können ungekühlt (Temperaturen bis zu 28 °C) oder bei 2-8 °C bis zu 15 Tage aufbewahrt werden. Für eine längere Aufbewahrung lagern Sie die unverdünnten Serumproben bei  $\leq -20$  °C.

Diese Proben sind bei  $\leq -20$  °C mindestens 3 Monate stabil. Mehr als sechs Einfrier/Auftau-Zyklen sollten vermieden werden.

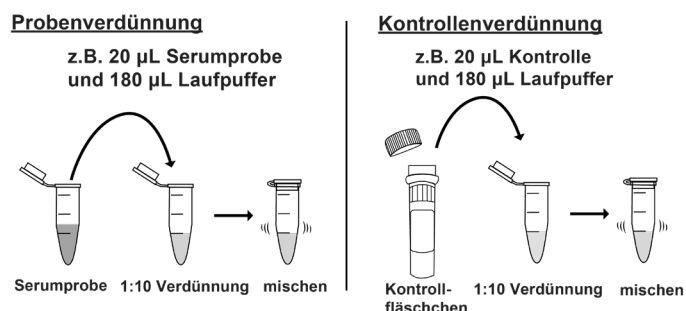
### TESTDURCHFÜHRUNG

Für den Test sollten nur Reagenzien verwendet werden, die auf Raumtemperatur gebracht wurden. Die Testkassette muss vor Testbeginn aus dem Folienbeutel genommen werden.

Der Arbeitsablauf gliedert sich in 2 Schritte:

#### 1. Verdünnung der Serumproben und Kontrollen mit Laufpuffer

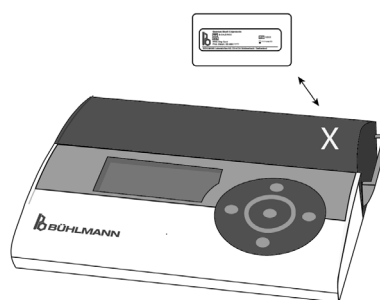
Die Serumproben und Kontrollen vor der Messung 1:10 mit Laufpuffer (B-LFADIF-CB) verdünnen (z. B. 20  $\mu$ L Serumprobe oder Kontrolle mit 180  $\mu$ L Laufpuffer in einem Probenröhrchen mischen) und durch Vortexen, Pipettieren oder Schütteln mischen.



#### 2. Lateral-Flow Testablauf und Messung

##### QB2

Von der jeweiligen RFID Chipkarte können zwei alternative Methoden geladen werden: B-LFADIF-RCC15 (mit integriertem Timer) oder B-LFADIF-RCC (ohne integrierten Timer). Wählen Sie eine der RFID Chipkarten aus, bevor Sie mit dem Test beginnen. Laden Sie die Testmethode von der RFID Chipkarte auf den Quantum Blue® Reader.



##### QB3G

Für die Probenmessung mit dem QB3G sind zwei verschiedene Betriebsmodi verfügbar: Fast Track Mode oder Fail Safe Mode. Bitte informieren Sie sich vor Beginn des Tests darüber, in welchem Betriebsmodus Ihr Lesegerät arbeitet.

Die Testmethode kann von der Barcodekarte geladen (Fast Track und Fail Safe Mode) bzw., falls zuvor verwendet, aus dem Testmenü ausgewählt werden (nur Fast Track Mode). Im Fast Track Mode können die Messungen mit oder ohne internen Zeitmesser durchgeführt werden. Im Fail Safe Mode können die Messungen nur mit einem internen Zeitmesser durchgeführt werden.



Folgen Sie den Anweisungen, die auf der Anzeige des QB3G angezeigt sind. Weitere Informationen zum Fast Track und Fail Safe Mode finden Sie in den Kurzanleitungen des QB3G.



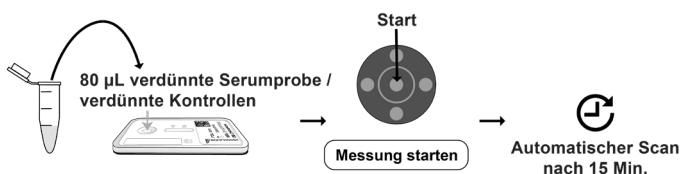
## 2.1. Methode mit integriertem Timer

**QB2:** Verwenden Sie die grüne RFID Chipkarte B-LFADIF-RCC15.

**QB3G (Fast Track Mode):** Bei Aufforderung des QB3G die Inkubationszeit zu überspringen, „NEIN“ auswählen.

**QB3G (Fail Safe Mode):** Standardeinstellung

- Packen Sie die Testkassette aus. Lassen Sie die Testkassette mindestens 2 Minuten lang in der Laborumgebung equilibrieren.
- Tragen sie 80 µL der verdünnten Serumprobe auf die runde Probenaufragsstelle der Testkassette auf (Abbildung 1D).
- Die Testkassette in den Testkassettenhalter des Quantum Blue® Readers legen.
- Den Testkassettenhalter schliessen und die Messung durch Drücken der Starttaste am QB2 oder der Option „Messung starten“ am QB3G starten.
- Der Lesevorgang startet automatisch nach 15 Minuten.
- Für die Kontrollen Tief / Hoch: Schritt 2.1 mit 80 µL der verdünnten Kontrolle anstelle des verdünnten Serums wiederholen.



## 2.2. Methode ohne integrierten Timer

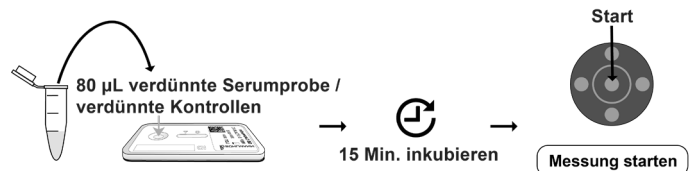
**QB2:** Verwenden Sie die weisse RFID Chipkarte B-LFADIF-RCC.

**QB3G (Fast Track Mode):** Bei Aufforderung des QB3G die Inkubationszeit zu überspringen, „JA“ auswählen.

**QB3G (Fail Safe Mode):** Option nicht verfügbar

- Packen Sie die Testkassette aus. Lassen Sie die Testkassette mindestens 2 Minuten lang in der Laborumgebung equilibrieren.

- Tragen sie 80 µL der verdünnten Serumprobe auf die runde Probenaufragsstelle der Testkassette auf (Abbildung 1D).
- Die Testkassette für 15 ±1 Minuten inkubieren (einen Wecker manuell einstellen).
- Die Testkassette in den Testkassettenhalter des Quantum Blue® Readers legen.
- Die Testkassette sofort mit dem Quantum Blue® Reader durch Drücken der Starttaste am QB2 oder der Option „Messung starten“ am QB3G scannen.
- Für die Kontrollen Tief / Hoch: Schritt 2.2 mit 80 µL der verdünnten Kontrolle anstelle des verdünnten Serums wiederholen.



**Anmerkung:** Informationen zu den Grundfunktionen sowie der Initialisierung und dem Betrieb der Quantum Blue® Reader, insbesondere zur Auswahl der Testmethoden und zum Laden chargenspezifischer Parameter von der RFID-Chipkarte (QB2) / Barcodekarte (QB3G) am Quantum Blue® Reader sind im Handbuch des Quantum Blue® Readers enthalten. Die Testkassette muss mit der richtigen Orientierung (mit dem Ablesefenster zuerst) in den Quantum Blue® Reader eingelegt werden (Abbildung 1D).

## QUALITÄTSKONTROLLE

- Falls die Ergebnisse des Testes nicht innerhalb der erwarteten Bereiche liegen und wiederholte Messungen einen Durchführungsfehler ausschliessen, sind folgende Bedingungen zu überprüfen: i) Pipetten, Temperatur und Zeitmessung, ii) Verfallsdaten der Reagenzien, iii) Lagerung- und Inkubationsbedingungen.
- Der Selbsttest, der beim Einschalten des Quantum Blue® Readers durchgeführt wird, muss gültig sein.

## STANDARDISIERUNG

- Das Kalibratormaterial besteht aus einem monoklonalen Anti-Infliximab-Human-IgG-Antikörper in einer humanen Serummatrix. Die chargenspezifischen Standardkurvenparameter sind im beigelegten QC-Datenblatt aufgeführt.
- Der Quantum Blue® Reader verwendet eine chargenspezifische Kalibrierkurve, um die Anti-Infliximab-Konzentration in Äquivalenten (µg<sub>eq</sub>/mL) zum monoklonalen Anti-Infliximab-IgG-Kalibrator zu berechnen.
- Der Quantum Blue® Reader gibt das Ergebnis als negativ <neg(-)> an, wenn die Probenkonzentration unterhalb 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL liegt. Ergebnisse gleich oder oberhalb 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL werden als positiv <pos(+)> angegeben.

## VALIDIERUNG DER RESULTATE

- Damit das Testresultat als gültig bewertet wird, muss die Kontrollbande (C) klar ersichtlich sein (siehe Abbildung 1A und Abbildung 1B). Diese wird nur als Funktionskontrolle verwendet und kann nicht zur Interpretation der Testbande (T) benutzt werden. Falls die Testbande (T) nach 15 Minuten Inkubation nicht ersichtlich ist (Abbildung 1A), bedeutet dies, dass Anti-Infliximab nicht nachweisbar ist. Falls die Testbande (T) nach 15 Minuten Inkubation ersichtlich ist (Abbildung 1B), wird die Anti-Infliximab Konzentration in der Serumprobe durch den Quantum Blue® Reader berechnet.
- Falls nach der Inkubation von 15 Minuten nur die Testbande (T) sichtbar ist (Abbildung 1C), ist das Resultat ungültig und der Test muss mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.
- Falls weder die Kontrollbande (C) noch die Testbande (T) nach der Inkubation sichtbar sind (Abbildung 1D), ist das Resultat ungültig und der Test muss mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.
- Da der Quantum Blue® Reader eine Bestimmung der Test- (T) und der Kontrollbande (C) erlaubt, wird eine zusätzliche Validitätsprüfung der Kontrollbande (C) durchgeführt. Falls die Signalintensität der Kontrollbande (C) nach der Inkubation von 15 Minuten einen bestimmten vorkonfigurierten Wert unterschreitet, ist das Resultat ungültig und der Test muss mit einer neuen Testkassette wiederholt werden.

## EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Quantum Blue® Anti-Infliximab-Test ist ein Drug-sensitiver Test und kann daher nur bei Proben mit nicht nachweisbaren Infliximab-Konzentrationen verwendet werden.
- Die mit diesem Kit bereitgestellten Reagenzien sind für die Messung von Anti-Infliximab-Antikörper-Spiegeln in Serumproben optimiert.
- Die Ergebnisse des Quantum Blue® Anti-Infliximab-Tests sollten in Kombination mit anderen klinischen und Laborbefunden interpretiert werden. Diese können u. a. die Bestimmung der Krankheitsaktivität, die Bestimmung von Infliximab-Medikamentenspiegel sowie Informationen zur Therapie-Compliance des Patienten umfassen.

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Der Quantum Blue® Reader zeigt die folgenden Ergebniskategorien des Quantum Blue® Anti-Infliximab-Tests an.

Anzeige	Interpretation
neg(-)	Nicht nachweisbarer oder niedriger Anti-Infliximab-Antikörper-Titer
pos(+)	Hoher Anti-Infliximab-Antikörper-Titer

Tabelle 3

## ERMITTLUNG DES CUT-OFFS

Zur Unterscheidung zwischen negativen und positiven Ergebnissen wurde für den Quantum Blue® Anti-

Infliximab-Test ein Cut-off von 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL ermittelt. Einhundertneunzehn (119) klinische Serumproben von Patienten unter Erhaltungstherapie mit Infliximab wurden mit dem Quantum Blue® Anti-Infliximab-Test und mit einem kommerziell erhältlichen ELISA-Kit gemessen. Zur Bestimmung negativer und positiver Ergebnisse des Referenz-ELISA-Tests wurde eine von Imbrechts et al. ermittelte klinische Toleranzgrenze verwendet (Ref. 1). Die Toleranzgrenze ist vergleichbar mit dem Cut-off von 8 µg/mL des TAXIT-Studien-Tests (Ref. 2), welche verwendet wurde, um Patienten mit hohen Anti-Infliximab-Antikörper-Spiegeln von der Dosisoptimierung auszuschliessen. Der Cut-off von 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL erzielte eine Empfindlichkeit von 80,8% und eine Spezifität von 94,9% im Vergleich zur Referenz-ELISA-Methode.

## LEISTUNGSMERKMALE

Die folgenden Leistungsmerkmale wurden mit dem Quantum Blue® Reader der 2. Generation und der 3. Generation erstellt.

Die Daten gelten für beide Readergenerationen.

### Methodenvergleich

#### Test-Übereinstimmung: 88%

Einhundertneunzehn (119) klinische Proben wurden mit 2 Lot des Quantum Blue® Anti-Infliximab-Tests über einen Zeitraum von 4 Tagen gemessen. Die Messungen ergaben 238 Werte, von denen 102 negativ und 136 positiv waren. Die durchschnittlichen Referenzwerte wurden mit einem kommerziell erhältlichen ELISA-Test ermittelt. Diese wurden auf Basis der von Imbrechts et al. (Ref 1) ermittelten Toleranzgrenze als negativ oder positiv klassifiziert. Dann wurde die Gesamtübereinstimmung der positiven und negativen Werte zwischen beiden Tests berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

### Laborinterne Präzision:

#### 96,1% - 100% innerhalb der Kategorie

Die Wiederholbarkeit und laborinterne Präzision wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP05-A3 mit dem standardisierten Studiendesign 20 Tage x 2 Läufe x 2 Replikate ermittelt. Drei (3) gepoolte Serumproben wurden getestet: negativ, knapp an der Toleranzgrenze und positiv. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

### Reproduzierbarkeit:

#### 88% - 100% innerhalb der Kategorie

Die Reproduzierbarkeit wurde gemäss CLSI-Leitlinie EP05-A3 mit dem Studiendesign 3 Geräte/Chargen/Bediener x 5 Tage x 5 Replikate ermittelt. Drei (3) gepoolte Serumproben wurden getestet: negativ, knapp an der Toleranzgrenze und positiv. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

### Nachweisgrenze (LoD): 0,7 µg<sub>eq</sub>/mL

Die LoD wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP17-A2 ermittelt und mit Anteilen von weniger als 5 % falsch-positiven (α) und weniger als 5 % falsch-negativen (β) basierend auf 120 Bestimmungen, mit 60 Leerproben- und 60 Niedrigspiegel-Replikaten; und einem LoB von 0,4 µg<sub>eq</sub>/mL.

### High-Dose-Hook Effekt

Bei künstlich hergestellten Proben mit theoretischen Anti-Infliximab-Konzentrationen von bis zu 150 µg<sub>eq</sub>/mL wurden keine negativen Ergebnisse beobachtet. Die Studie wurde mit zwei Quantum Blue® Anti-Infliximab-Lot durchgeführt.

---

### WECHSELWIRKENDE SUBSTANZEN

Die Empfindlichkeit des Quantum Blue® Anti-Infliximab-Tests gegenüber wechselwirkenden Substanzen wurde gemäss CLSI-Richtlinie EP07-A2 beurteilt. Die wechselwirkenden Substanzen wurden bei Konzentrationen getestet, die dreimal höher waren als diejenige, die für klinischen Proben angegeben bzw. erwartet wurden, oder bei Konzentrationsspiegeln, die von CLSI-Richtlinie EP07-A2 empfohlen wurden. Es wurden mindestens 7 Replikate pro wechselwirkende Substanz getestet. Ein Ergebnis ausserhalb der Kategorie von einem einzelnen Replikat wurde als wechselwirkende Substanz bewertet.

#### TNF $\alpha$ -Blocker

TNF $\alpha$ -Blocker wurden bei Konzentrationen getestet, die die niedrigsten empfohlenen Medikamentenspiegel des Arzneimittels um das dreifache überschritten. Für Adalimumab (Humira®) wurde bis zu 15 µg/mL keine Wechselwirkung nachgewiesen. Eine Wechselwirkung wurde mit der Substanz Infliximab nachgewiesen (Remicade®, 10 µg/mL). Die Wechselwirkung wurde über einen Dosis-Wirkungstest weiter charakterisiert. Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Anwesenheit von Anti-infliximab nur in Proben mit nicht nachweisbaren Infliximab-Spiegeln beurteilt werden kann.

#### Serum-Indizes

Mit den folgenden Substanzen wurde bis zu den aufgeführten Konzentrationen keine Wechselwirkung nachgewiesen: Triglyzeride (Intralipid® 1320 mg/dL; entspricht 37 mmol/L Triglyzerid), konjugiertes Bilirubin (342 µmol/L; 29 mg/dL), nicht konjugiertes Bilirubin (342 µmol/L; 20,0 mg/dL), Hämoglobin (200 g/L) und Rheumafaktoren (796 IE/mL).

#### Immunsuppressiva und sonstige Medikamente

Mit den folgenden Substanzen wurde bis zu den aufgeführten Konzentrationen keine Wechselwirkung nachgewiesen: Azathioprin (10,8 µmol/L, 3,0 µg/mL), 6-Mercaptopurin (13,1 µmol/L, 2,0 µg/mL) und Methotrexat (149,6 µmol/L, 68,0 µg/mL).

## FRANÇAIS

### UTILISATION PREVUE

Le test Quantum Blue® Anti-Infliximab est un dosage immunologique de diagnostic *in vitro* qualitatif destiné à la détection de titres élevés en anticorps anti-infliximab dans des échantillons de sérum humain. Le test constitue une aide à la surveillance thérapeutique pharmacologique chez les patients souffrant de maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI) et de polyarthrite rhumatoïde (PR), et traités par infliximab. Le test est utilisé en conjonction avec d'autres résultats cliniques et biologiques. Le test Quantum Blue® Anti-Infliximab s'utilise en association avec le Quantum Blue® Reader.

Pour utilisation en laboratoire.

Europe : pour utilisation professionnelle.

### PRINCIPE DU TEST

Le test permet la mesure sélective des anticorps anti-infliximab par un dosage immunologique de type sandwich. Les intensités de signal de la ligne test (T) et de la ligne contrôle (C) sont mesurées par le Quantum Blue® Reader. Les résultats sont rapportés comme étant négatifs <neg(-)> ou positifs <pos(+)>.

### REACTIFS FOURNIS ET PREPARATION

Réactifs	Quantité		Code	Commentaires
	LF-ADIF25	LF-ADIF10		
Cassette test	25 pièces	10 pièces	B-LFADIF-TC	Scellée sous vide dans un sachet
Tampon de dilution	1 flacon 10 mL	1 flacon 10 mL	B-LFADIF-CB	Prêt à l'emploi
Contrôles Bas*/Elevé*	2 flacons, 0.1 mL	2 flacons, 0.1 mL	B-LFADIF-CONSET	A diluer au 1:10e dans du tampon de dilution avant utilisation
Carte à puce RFID	1 pièce	1 pièce	B-LFADIF-RCC	Carte en plastique <b>blanche</b>
Carte à puce RFID	1 pièce	1 pièce	B-LFADIF-RCC15	Carte en plastique <b>verte</b>
Carte à code-barres	1 pièce	1 pièce	B-LFADIF-BCC	Carte en plastique à code-barres 2D

Tableau 1

\* Les contrôles sont spécifiques du lot. Les contrôles bas et élevés doivent respectivement rendre un résultat <neg(-)> et <pos(+)>.

### VERIFICATION DU COFFRET

Les produits BÜHLMANN ont été fabriqués avec le plus grand soin et tous les efforts ont été pris pour assurer la livraison d'une trousse complète et performante. Cependant, nous vous conseillons de vérifier les cassettes tests et leur emballage dans la trousse, à savoir :

- Date d'expiration.
- L'état impeccable de l'emballage (par exemple absence de toute perforation pouvant entraîner une manipulation incorrecte).

- L'état impeccable des cassettes lors de leur utilisation (par exemple absence de rayure sur la membrane d'analyse).

Dans le cas où l'une des cassettes tests ne répond pas aux critères décrits ci-dessus, utiliser une autre cassette test.

### STOCKAGE ET DUREE DE CONSERVATION DES REACTIFS

Réactifs non ouverts	
Conserver à 2-8 °C. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur les étiquettes	
Réactifs ouverts	
Cassette test	Les cassettes test sorties de leur sachet en aluminium doivent être utilisées dans les 4 heures.
Tampon de dilution	Conserver jusqu'à 6 mois à 2-8 °C après ouverture.
Contrôles Bas / Elevé	Conserver jusqu'à 6 mois à 2-8 °C après ouverture.

Tableau 2

### MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Vortex
- Minuteur (facultatif)
- Pipettes de précision avec embouts jetables : 10-100 µL et 100-1000 µL
- Tubes Eppendorf (ou équivalent) pour diluer les échantillons de sérum
- Quantum Blue® Reader disponible chez BÜHLMANN (code de commande : BI-POCTR-ABS)
- Gants et blouse de laboratoire

### PRECAUTIONS

#### Précautions de sécurité

- Aucun des réactifs de ce test ne contient de composants d'origine humaine.
- Les échantillons doivent être manipulés en respectant les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et avec les précautions requises, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des infections.
- **Réactifs** : Éviter le contact des réactifs avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, laver immédiatement et abondamment à l'eau afin d'éviter toute irritation.
- Toute solution non utilisée doit être éliminée conformément aux réglementations locales et nationales en vigueur.

#### Précautions techniques

#### Composants du kit

- Le test doit être réalisé à température ambiante (20-26°C).
- Tous les réactifs et les échantillons doivent être équilibrés à température ambiante avant de commencer le test.
- Une fois équilibrée à température ambiante, retirer la cassette test du sachet en aluminium. Laisser la cassette test s'équilibrer dans l'environnement du

laboratoire pendant au moins 2 minutes avant de démarrer le dosage.

- Bien mélanger les réactifs (vortex) avant utilisation.
- Les composants ne doivent pas être utilisés après la date de péremption indiquée sur les étiquettes.
- Ne pas mélanger des réactifs de lots différents.
- Ne pas démonter la cassette test.
- Les cassettes test sont à usage unique.
- Manipuler les cassettes test avec soin. Ne pas contaminer l'orifice de chargement de l'échantillon ou la fenêtre de lecture par contact avec la peau, d'autres liquides, etc. (figure 1D).
- Assurer une position horizontale plane de la cassette test durant l'analyse.

### Procédure de test

- Lire attentivement les instructions avant d'effectuer le test. La performance d'analyse sera affectée si les réactifs sont dilués de manière incorrecte, manipulés ou entreposés dans des conditions autres que celles détaillées dans la présente notice d'utilisation.
- Noter qu'il y a deux générations de lecteurs : Le Quantum Blue® Reader 2<sup>ème</sup> génération avec des numéros de série entre 1000 et 3000 (QB2) et le Quantum Blue® Reader 3<sup>ème</sup> génération avec des numéros de série supérieurs à 3000 (QB3G).
- Le QB2 doit être allumé et programmé pour le dosage Quantum Blue® Anti-Infliximab. Charger la méthode de dosage au moyen de la carte à puce RFID (B-LFADIF-RCC ou B-LFADIF-RCC15) avant le démarrage du test (cf. manuel du Quantum Blue® Reader).
- Le QB3G doit être allumé et programmé pour le dosage Quantum Blue® Anti-Infliximab, soit en utilisant la carte à code-barres (B-LFADIF-BCC), soit par sélection dans le menu Test (mode Fast Track uniquement). Pour plus d'informations, consulter le manuel du Quantum Blue® Reader.
- Utiliser la carte à puce RFID (QB2) / la carte à code-barres (QB3G) afin de changer les paramètres d'analyse spécifiques du lot.
- Un traitement incorrect des échantillons peut entraîner des résultats inexacts.
- Les échantillons dilués doivent être analysés dans les 4 heures. Pour un stockage de plus longue durée, conserver les échantillons dilués à 2-8 °C et réaliser l'analyse dans les 24 heures.

### PRELEVEMENT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Prélever le sang dans des tubes de ponction veineuse sans additif et évitant l'hémolyse. Préparer le sérum conformément aux instructions du fabricant. Décanter le sérum.

Les échantillons de sérum non dilués peuvent être stockés sans réfrigération (températures jusqu'à 28 °C) ou à 2-8 °C jusqu'à 15 jours. Pour un stockage de plus longue durée, conserver les échantillons de sérum non dilués à ≤ -20 °C. Les échantillons sont stables pendant au moins 3 mois à ≤ -20 °C. Il n'est pas recommandé de pratiquer plus de six cycles de congélation-décongélation.

### PROCEDURE DE DOSAGE

N'utiliser pour le test que des réactifs équilibrés à température ambiante. La cassette test doit être retirée de son sachet en aluminium avant le démarrage du test.

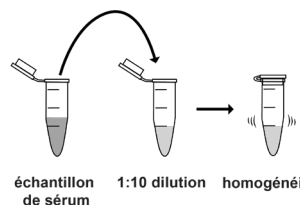
La procédure de dosage se déroule en 2 étapes :

#### 1. Dilution des échantillons de sérum et des contrôles dans le tampon de dilution

Avant l'analyse, diluer l'échantillon de sérum et les contrôles au 1:10 avec le tampon de dilution (B-LFADIF-CB) (p. ex., mélanger 20 µL d'échantillon de sérum ou de contrôle avec 180 µL de tampon de dilution dans un tube à essai) et mélanger au vortex, à la pipette ou par agitation.

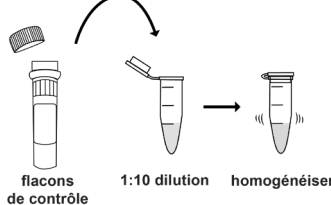
##### Dilution des échantillons de sérum

p. ex. 20 µL d'échantillon de sérum avec 180 µL de tampon de dilution



##### Dilution des contrôles

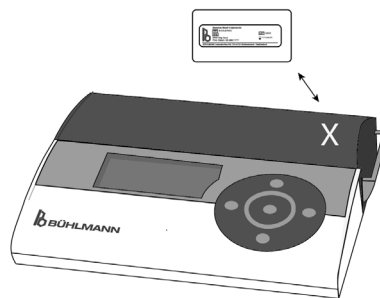
p. ex. 20 µL de contrôle avec 180 µL de tampon de dilution



#### 2. Procédure et lecture du dosage

##### QB2

Deux méthodes alternatives peuvent être chargées à partir des cartes à puce RFID respectives : B-LFADIF-RCC15 (avec minuteur interne) ou B-LFADIF-RCC (sans minuteur interne). Sélectionner l'une des cartes à puce RFID avant de commencer les expériences. Charger la méthode d'analyse à partir de la carte à puce RFID sur le Quantum Blue® Reader.



##### QB3G

Deux modes de fonctionnement différents sont proposés pour mesurer les échantillons avec le QB3G : le mode Fast Track et le mode Fail Safe. Avant de démarrer le dosage, vérifier le mode de fonctionnement pour lequel le lecteur est programmé.

La méthode de test peut être chargée à partir de la carte à code-barres (modes Fast Track et Fail Safe) ou, en cas d'utilisation antérieure, sélectionnée depuis le menu Test (mode Fast Track uniquement). Les mesures peuvent être effectuées avec ou sans minuteur interne dans le mode Fast Track. Les mesures en mode Fail Safe peuvent uniquement être effectuées avec un minuteur interne. Suivre les instructions indiquées sur l'écran du QB3G. Consulter également les manuels de démarrage rapide du lecteur QB3G pour les modes Fast Track et Fail Safe.



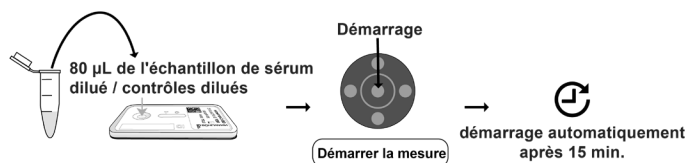
### 2.1. Méthode avec minuteur interne

**QB2:** Utiliser la carte à puce RFID verte B-LFADIF-RCC15

**QB3G (mode Fast Track):** lorsque le lecteur QB3G propose d'ignorer la période d'incubation, sélectionner « NON »

**QB3G (mode Fail Safe):** paramètre par défaut

- Déballer la cassette test et la laisser s'équilibrer à température ambiante pendant au moins 2 minutes.
- Ajouter 80 µL de l'échantillon de sérum dilué dans l'orifice de chargement d'échantillon de la cassette test (figure 1D).
- Insérer la cassette test dans le tiroir du Quantum Blue® Reader.
- Fermer le tiroir et démarrer l'analyse en appuyant sur le bouton de démarrage du lecteur QB2 ou en sélectionnant l'option «Démarrer la mesure» du lecteur QB3G.
- Le scanner démarre automatiquement au bout de 15 minutes.
- Pour les contrôles bas/élevés : réaliser l'étape 2.1 en utilisant 80 µL de contrôle dilué au lieu de l'échantillon de sérum dilué.



### 2.2. Méthode sans minuteur interne

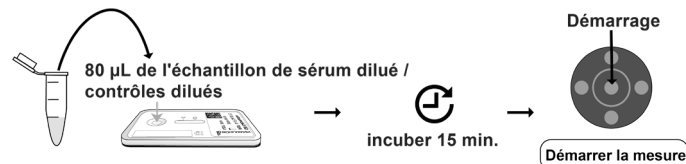
**QB2:** Utiliser la carte à puce RFID blanche B-LFADIF-RCC

**QB3G (mode Fast Track):** lorsque le lecteur QB3G propose d'ignorer la période d'incubation, sélectionner « OUI »

**QB3G (mode Fail Safe):** option non disponible

- Déballer la cassette test et la laisser s'équilibrer à température ambiante pendant au moins 2 minutes.
- Ajouter 80 µL de l'échantillon de sérum dilué dans l'orifice de chargement d'échantillon de la cassette test (figure 1D).

- Incuber pendant 15 ±1 minutes (régler un minuteur manuellement).
- Insérer la cassette test dans le tiroir du Quantum Blue® Reader.
- Lancer immédiatement la lecture de la cassette test avec le Quantum Blue® Reader en appuyant sur le bouton de démarrage du QB2 ou en sélectionnant l'option «Démarrer la mesure» du QB3G.
- Pour les contrôles bas/élevés : réaliser l'étape 2.2 en utilisant 80 µL de contrôle dilué au lieu de l'échantillon de sérum dilué.



**Remarque :** Consulter le mode d'emploi du Quantum Blue® Reader pour prendre connaissance des fonctions de base et de la façon d'initialiser et d'utiliser les Quantum Blue® Readers, en particulier pour sélectionner les méthodes de tests et charger les paramètres spécifiques du lot à partir de la carte à puce RFID (QB2) /carte à code-barres (QB3G) sur le Quantum Blue® Reader. Vérifier que la cassette test est bien insérée dans le Quantum Blue® Reader, fenêtre de lecture en premier (figure 1D).

## CONTROLE DE QUALITE

- Si la performance du dosage n'est pas corrélée avec les limites établies et que la répétition exclut toute erreur technique, on vérifiera les paramètres suivants : i) pipetage, dispositifs de contrôle de la température et du temps, ii) date d'expiration des réactifs et iii) conditions de conservation et d'incubation.
- L'auto-vérification effectuée lors de la mise en marche du Quantum Blue® Reader doit être valide.

## STANDARDISATION

- Le matériel d'étalonnage est un anticorps monoclonal anti-infliximab de type IgG d'origine humaine dans une matrice de sérum humain. Les paramètres de la courbe de calibration spécifique du lot sont indiqués dans la fiche de contrôle qualité inclus dans le coffret.
- Le Quantum Blue® Reader utilise une courbe d'étalonnage spécifique du lot pour calculer la concentration d'anticorps anti-infliximab en équivalents (µg<sub>équiv</sub>/mL) du calibrateur monoclonal anti-infliximab de type IgG.
- Le Quantum Blue® Reader indique que le résultat est négatif <neg(-)> si la concentration de l'échantillon est inférieure à 1,3 µg<sub>équiv</sub>/mL. Les résultats supérieurs ou égaux à 1,3 µg<sub>équiv</sub>/mL sont indiqués comme étant positifs <pos(+)>.

## VALIDATION DES RESULTATS

- Pour valider un résultat de test, la ligne de contrôle (C) doit toujours être visible (voir figure 1A et figure 1B). Cette ligne est uniquement utilisée comme contrôle

fonctionnel du test et ne peut servir à l'interprétation de la ligne de test (T). Si la ligne de test (T) n'est pas détectable au bout de 15 minutes de temps d'incubation (figure 1A), cela signifie que la concentration d'anticorps anti-infliximab présents dans l'échantillon de sérum est inférieure à la limite de détection. Si une ligne de test (T) est détectable au bout de 15 minutes de temps d'incubation (figure 1B), la quantité d'anticorps anti-infliximab présente dans l'échantillon de sérum est calculée par le Quantum Blue® Reader.

- Si seule la ligne de test (T) est détectable après 15 minutes de temps d'incubation (figure 1C), le résultat du test n'est pas valide et le dosage des anticorps anti-infliximab doit être répété en utilisant une nouvelle cassette test.
- Dans le cas où ni la ligne de contrôle (C) ni la ligne de test (T) ne sont détectables au bout de 15 minutes de temps d'incubation (figure 1D), le résultat du test n'est pas valide et le dosage des anticorps anti-infliximab doit être répété en utilisant une nouvelle cassette test.
- Étant donné que le Quantum Blue® Reader permet une évaluation des lignes de test (T) et de contrôle (C), une vérification supplémentaire de la validité de la ligne de contrôle (C) est effectuée. Si l'intensité du signal de la ligne de contrôle (C) est en dessous d'un seuil spécifique et préconfiguré après 15 minutes de temps d'incubation, le résultat du test est également non valide et le dosage des anticorps anti-infliximab doit être répété en utilisant une nouvelle cassette test.

### LIMITES

- Le test Quantum Blue® Anti-Infliximab est sensible aux médicaments et ne peut donc être utilisé que sur des échantillons dont les concentrations en infliximab sont indétectables.
- Les réactifs fournis dans ce coffret sont optimisés pour la mesure des niveaux d'anticorps anti-infliximab dans des échantillons de sérum.
- Les résultats du test Quantum Blue® Anti-Infliximab doivent être interprétés en association avec d'autres résultats cliniques et de laboratoire. Ces derniers peuvent inclure la détermination de l'activité de la maladie, la détermination des concentrations résiduelles d'infliximab, ainsi que des informations sur l'observance du patient.

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le Quantum Blue® Reader affiche les catégories de résultats suivantes pour le dosage Quantum Blue® Anti-Infliximab :

Affichage	Interprétation
neg(-)	Titre en anticorps anti-infliximab non détectable ou faible
pos(+)	Titre en anticorps anti-infliximab élevé

Tableau 3

### ETABLISSEMENT DE LA VALEUR SEUIL

Une valeur seuil de 1,3 µg<sub>équ</sub>/mL a été établie pour distinguer les résultats négatifs des résultats positifs dans

le dosage Quantum Blue® Anti-Infliximab. Cent dix-neuf (119) échantillons de sérums cliniques, issus de patients sous traitement d'entretien par infliximab, ont été analysés avec le dosage Quantum Blue® Anti-Infliximab et un coffret ELISA disponible dans le commerce. Un seuil clinique établi par Imbrechts et al. a été utilisé pour déterminer les résultats négatifs et positifs du test ELISA de référence (réf. 1). La valeur seuil est comparable au seuil de 8 µg/mL issu de l'étude clinique TAXIT (réf. 2), qui a été utilisé pour exclure de l'optimisation de la dose les patients présentant des niveaux élevés d'anticorps anti-infliximab. Considérant la valeur seuil de 1,3 µg<sub>équ</sub>/mL et en comparant à la méthode ELISA de référence, le test obtient une sensibilité de 80,8% et à une spécificité de 94,9%.

### CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Les caractéristiques de performance suivantes ont été établie à l'aide du Quantum Blue® Reader 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération.

Les caractéristiques de performances sont applicables pour les lecteurs des deux générations.

#### Comparaison des méthodes

##### Recouvrement : 88%

Cent dix-neuf (119) échantillons cliniques ont été mesurés avec 2 lots du dosage Quantum Blue® Anti-Infliximab sur une période de 4 jours, aboutissant à l'obtention de 238 valeurs, dont 102 étaient négatives et 136 positives. Les valeurs moyennes de référence ont été établies avec un dosage ELISA disponible dans le commerce. Elles ont été classées comme négatives ou positives sur la base du seuil établi par Imbrechts et al. (réf. 1). Le recouvrement total des valeurs positives et négatives entre les deux dosages a été calculé. Les résultats sont résumés dans le tableau 4.

##### Précision intra-laboratoire : 96,1% - 100% dans la catégorie

La répétabilité et la précision intra-laboratoire ont été établies selon la ligne directrice CLSI EP05-A3 en utilisant le modèle d'étude standard de 20 jours x 2 analyses x 2 répétitions. Trois (3) échantillons de sérum rassemblés : négatif, proche du valeur de seuil et positif, ont été analysés. Les résultats sont résumés dans le tableau 5.

##### Reproductibilité : 88% - 100% dans la catégorie

La reproductibilité a été établie selon la ligne directrice CLSI EP05-A3 en utilisant un modèle d'étude 3 instruments/lots/opérateurs x 5 jours x 5 répétitions. Trois (3) échantillons de sérum rassemblés : négatif, proche du valeur de seuil et positif, ont été analysés. Les résultats sont résumés dans le tableau 6.

##### Limite de détection (LdD) : 0,7 µg<sub>équ</sub>/mL

La LdD a été établie en suivant la ligne directrice EP17-A2 du CLSI et avec des proportions de faux positifs (α) inférieure à 5% et de faux négatifs (β) inférieure à 5% en se basant sur 120 déterminations, avec 60 blancs et 60 répétitions de faible niveau ; et une LdB de 0,4 µg<sub>équ</sub>/mL.

### **Effet crochet à dose élevée**

Aucun effet crochet à haute concentration n'a été observé pour des échantillons de sérum regroupés de concentration théorique en anticorps anti-infliximab pouvant atteindre 150 µg<sub>equiv</sub>/mL. L'étude a été réalisée avec deux lots de Quantum Blue® Anti-Infliximab.

---

## **SUBSTANCES INTERFERENTES**

La sensibilité du test Quantum Blue® Anti-Infliximab aux substances interférentes a été évaluée selon la ligne directrice CLSI EP07-A2. Les substances interférentes ont été testées à des concentrations trois fois plus importantes que celles rapportées ou attendues dans les échantillons cliniques, ou aux concentrations recommandées par la ligne directrice CLSI EP07-A2. Au moins 7 répétitions ont été réalisées par substance interférente. Un résultat hors catégorie pour une répétition donnée était considéré comme une interférence.

### **Agent bloquant du TNF $\alpha$**

Les agents bloquants du TNF $\alpha$  ont été testés à des concentrations trois fois supérieures aux concentrations minimales recommandées. Aucune interférence n'a été détectée jusqu'à 15 µg/mL pour l'adalimumab (Humira®). Une interférence a été détectée avec la substance Infliximab (Remicade®, 10 µg/mL). L'effet d'interférence a en outre été caractérisé par un test dose-réponse. Les résultats indiquent que la présence d'anticorps anti-infliximab ne peut être évaluée que dans des échantillons présentant des taux d'Infliximab indétectables.

### **Indices sériques**

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes à la concentration indiquée : Triglycérides (Intralipid® 1320 mg/dL ; équivalent à 37 mmol/L de triglycéride), bilirubine conjuguée (342 µmol/L ; 29 mg/dL), bilirubine non conjuguée (342 µmol/L ; 20,0 mg/dL), hémoglobine (200 g/L) et facteurs rhumatoïdes (796 UI/mL).

### **Immuno-suppresseurs/co-médication**

Aucune interférence n'a été détectée avec les substances suivantes à la concentration indiquée : azathioprine (10,8 µmol/L, 3,0 µg/mL), 6-mercaptopurine (13,1 µmol/L, 2,0 µg/mL) et méthotrexate (149,6 µmol/L, 68,0 µg/mL).



## USO PREVISTO

Il test Quantum Blue® Anti-Infliximab è un immunodosaggio qualitativo *in vitro* per l'identificazione di titoli elevati di anticorpi anti-infliximab in campioni di siero umano. Il test serve come supporto per il monitoraggio terapeutico dei farmaci nei pazienti con malattia infiammatoria intestinale (IBD) e artrite reumatoide (AR) in terapia con infliximab. Il test va usato insieme ad altre evidenze cliniche e di laboratorio. Quantum Blue® Anti-Infliximab si usa in associazione con Quantum Blue® Reader.

Per uso di laboratorio.

Europa: per uso professionale.

## PRINCIPIO DEL TEST

Questo test serve per misurare in modo selettivo gli anticorpi anti-infliximab tramite un immunodosaggio a sandwich. Le intensità di segnale della linea del test (T) e della linea di controllo (C) si misurano con Quantum Blue® Reader. I risultati sono riportati come negativo <neg(-)> o positivo <pos(+)>.

## REAGENTI E MATERIALI FORNITI

Reagente	Quantità		Codice	Commenti
	LF-ADIF25	LF-ADIF10		
Cassette di test	25 unità	10 unità	B-LFADIF-TC	Sigillata a vuoto in busta di alluminio
Tampone di diluizione	1 flacone 10 mL	1 flacone 10 mL	B-LFADIF-CB	Pronto per l'uso
Controlli Alto* / Basso*	2 flaconi, 0,1 mL	2 flaconi, 0,1 mL	B-LFADIF-CONSET	Prima dell'uso diluire 1:10 in tampone di diluizione
Card chip RFID	1 unità	1 unità	B-LFADIF-RCC	Card RFID bianca
Card chip RFID	1 unità	1 unità	B-LFADIF-RCC15	Card RFID verde
Carta con codice a barre	1 unità	1 unità	B-LFADIF-BCC	Scheda di plastica 2D con codice a barre

Tabella 1

\* I controlli sono lotto specifici. I controlli basso e alto devono essere refertati rispettivamente come <neg(-)> e <pos(+)>.

## VERIFICARE IL TEST KIT

I prodotti BÜHLMANN sono stati fabbricati con la massima attenzione e sono stati adottati tutti gli sforzi possibili per assicurare la completezza di questo kit di test e delle sue prestazioni. Tuttavia, si consiglia di verificare il kit per la condizione delle cassette di test e il relativo imballaggio, secondo i seguenti criteri:

- Data di scadenza.
- Assenza di difetti dell'imballaggio (per esempio; assenza di perforazioni che potrebbero essere state causate da una manipolazione impropria).
- Assenza di difetti delle cassette di test (per esempio; assenza di graffi sulla membrana analitica).

Se una delle cassette di test non dovesse soddisfare i criteri menzionati sopra, si prega di usare un'altra cassetta.

## CONSERVAZIONE E VALIDITÀ DEI REAGENTI

Reagenti non aperti	
Conservare a 2-8 °C. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza indicata sulle etichette.	
Reagenti aperti	
Cassette di test	Le cassette di test estratte dalla busta di alluminio devono essere usate entro 4 ore.
Tampone di diluizione	Conservare per un massimo di 6 mesi a 2-8 °C dopo l'apertura.
Controlli Alto / Basso	Conservare per un massimo di 6 mesi a 2-8 °C dopo l'apertura.

Tabella 2

## MATERIALI NECESSARI, MA NON FORNITI

- Miscelatore vortex
- Timer (opzionale)
- Pipette di precisioni con puntuali monouso: 10-100 µL e 100-1000 µL
- Provette Eppendorf (o equivalente) per la diluizione dei campioni di siero
- Quantum Blue® Reader fornito da BÜHLMANN (codice d'ordine: BI-POCTR-ABS)
- Guanti e camice da laboratorio

## PRECAUZIONI

### Precauzioni di sicurezza

- Nessuno dei reagenti di questo test contiene componenti di origine umana.
- I campioni vanno gestiti adottando le precauzioni appropriate come se fossero potenzialmente infetti e in conformità alle Buone Pratiche di Laboratorio (BPL).
- **Reagenti:** Evitare il contatto dei reagenti con pelle, occhi o mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua; altrimenti potrebbe verificarsi irritazioni.
- La soluzione inutilizzata deve essere smaltita nel rispetto delle disposizioni locali, regionali e nazionali in materia.

### Precauzioni tecniche

#### Componenti del kit

- Il test deve essere eseguito a temperatura ambiente (20-26 °C).
- Tutti i reagenti e i campioni devono essere equilibrati a temperatura ambiente prima di iniziare l'analisi.
- Una volta equilibrata a temperatura ambiente, rimuovere la cassetta del test dalla busta di alluminio. Lasciare equilibrare la cassetta del test nell'ambiente del laboratorio per almeno 2 minuti prima di iniziare il saggio.

- Miscelare bene (vortexare) i reagenti prima dell'uso.
- I componenti non devono essere utilizzati dopo la data di scadenza riportata sulle etichette.
- Non mescolare lotti diversi di reagenti.
- Non disassemblare le cassette di test.
- Le cassette di test non possono essere riutilizzate.
- Manipolare le cassette di rilevazione con attenzione. Non contaminare la porta di caricamento del campione o la finestra di lettura mediante contatto con la pelle, altri liquidi, etc. (figura 1D).
- Assicurarsi di una posizione piana e orizzontale della cassetta di test durante l'esecuzione del saggio.

### Procedura del test

- Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire il test. Le prestazioni del test subiranno un effetto negativo se si utilizzano reagenti diluiti in modo errato, manipolati o conservati diversamente da come specificato nelle presenti istruzioni per l'uso.
- Nota che ci sono due generazioni di lettori: Il Quantum Blue® Reader 2<sup>a</sup> Generazione con numeri di serie tra 1000 e 3000 (QB2) e il Quantum Blue® Reader 3<sup>a</sup> Generazione con numeri di serie superiori a 3000 (QB3G).
- Il QB2 deve essere acceso e programmato per il Quantum Blue® Anti-Infliximab. Caricare il metodo di dosaggio impiegando la card chip RFID (B-LFADIF-RCC o B-LFADIF-RCC15) prima di iniziare l'analisi (vedere il manuale del Quantum Blue® Reader).
- Il QB3G deve essere acceso e programmato per il dosaggio Quantum Blue® Anti-Infliximab utilizzando la carta con codice a barre (B-LFADIF-BCC) o tramite selezione dal menu di analisi (solo Fast Track Mode). Per maggiori informazioni consultare il manuale del Quantum Blue® Reader.
- Utilizzare la card chip RFID (QB2) / carta con codice a barre (QB3G) per modificare i parametri di test lotto specifici.
- I campioni manipolati in modo non appropriato possono dare origine a risultati inaccurati.
- I campioni diluiti devono essere misurati entro 4 ore. Per periodi di conservazione più lunghi, conservare i campioni diluiti a 2-8 °C e misurare entro 24 ore.

### RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Prelevare il sangue in provette semplici per prelievo venoso senza alcun additivo ed evitare l'emolisi. Preparare il siero seguendo le istruzioni del fabbricante. Far decantare il siero.

I campioni di siero non diluiti possono essere conservati fuori dal frigorifero (temperatura massima: 28 °C) o a 2-8 °C per non più di 15 giorni. Per periodi di conservazione più lunghi, mantenere i campioni di siero non diluiti a ≤-20 °C. I campioni sono stabili per almeno 3 mesi a ≤-20 °C. Vanno evitati più di 6 cicli di congelamento-scongelo.

### PROCEDURA DEL TEST

Per il dosaggio utilizzare solo reagenti equilibrati a temperatura ambiente. La cassetta di test deve essere rimossa dalla busta di alluminio prima dell'inizio del dosaggio.

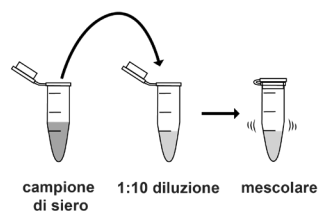
La procedura per il dosaggio consiste in due fasi:

#### 1. Diluizione dei campioni di siero e dei controlli con il tampone di diluizione

Prima della misurazione, diluire i campioni di siero e i controlli 1:10 con tampone di diluizione (B-LFADIF-CB) (ad es. miscelare 20 µL del campione di siero o del controllo con 180 µL di tampone di diluizione in una provetta di analisi) e miscelarli mediante vortex, pipettando o agitando.

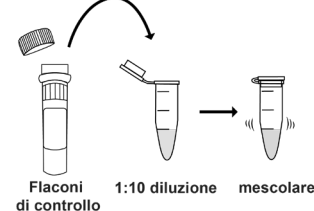
##### Diluizione dei campioni di siero

ad es. 20 µL del campione di siero con 180 µL di tampone di diluizione



##### Diluizione di controllo

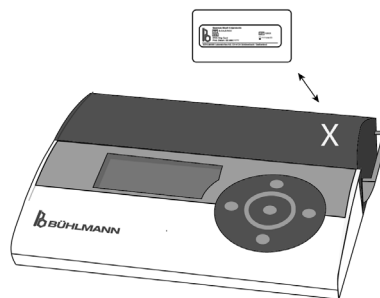
ad es. 20 µL di controllo con 180 µL di tampone di diluizione



#### 2. Esecuzione del test e lettura

##### QB2

Due metodi alternativi possono essere caricati dalle rispettive card chip RFID: B-LFADIF-RCC15 (con timer interno) o B-LFADIF-RCC (senza timer interno). Selezionare una delle card chip RFID prima di iniziare gli esperimenti. Caricare il metodo di test dalla card chip RFID sul Quantum Blue® Reader.



##### QB3G

Per misurare i campioni con QB3G sono disponibili due diverse modalità operative: Fast Track Mode o Fail Safe Mode. Prima di avviare il dosaggio, informarsi della modalità operativa in cui il proprio lettore sta funzionando. Il metodo di analisi può essere caricato dalla carta con codice a barre (Fast Track e Fail Safe Mode) o, se è stato usato in precedenza, selezionato dal menu di analisi (solo Fast Track Mode). Le misurazioni in Fast Track Mode possono essere effettuate con o senza timer interno. Le misurazioni in Fail Safe Mode possono essere effettuate solo con timer interno.

Seguire le istruzioni riportate sullo schermo di QB3G. Per le modalità Fast Track e Fail Safe Mode si possono consultare anche le Guide rapide a QB3G.



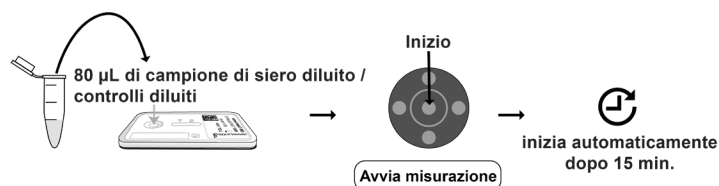
## 2.1. Metodo con timer interno

**QB2:** utilizzare la carta chip RFID verde B-LFADIF-RCC15

**QB3G (Fast Track Mode):** quando QB3G chiede se si desidera saltare il tempo di incubazione, selezionare “NO”

**QB3G (Fail Safe Mode):** impostazione predefinita

- Estrarre dalla confezione la cassetta del test. Lasciare equilibrare la cassetta nell'ambiente del laboratorio per almeno 2 minuti.
- Aggiungere 80 µL di campione di siero diluito nel punto di dispensazione della cassetta (figura 1D).
- Inserire la cassetta del test nell'apposito vano a scorrere per cassetta del Quantum Blue® Reader.
- Chiudere il supporto della cassetta del test e avviare la misurazione premendo il pulsante di inizio su QB2 oppure l'opzione “Avvia misurazione” su QB3G.
- La scansione inizia automaticamente dopo 15 minuti.
- Per i controlli basso / alto: ripetere il passaggio 2.1 usando 80 µL di controlli diluiti invece del siero diluito.



## 2.2. Metodo senza timer interno

**QB2:** utilizzare la carta chip RFID bianca B-LFADIF-RCC

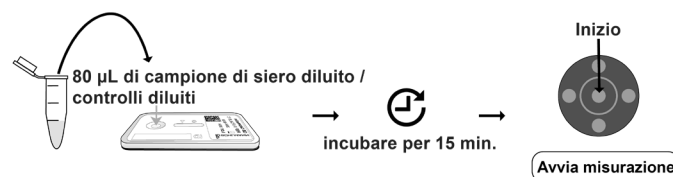
**QB3G (Fast Track Mode):** quando QB3G chiede se si desidera saltare il tempo di incubazione, selezionare “Sì”

**QB3G (Fail Safe Mode):** opzione non disponibile

- Estrarre dalla confezione la cassetta del test. Lasciare equilibrare la cassetta nell'ambiente del laboratorio per almeno 2 minuti.
- Aggiungere 80 µL di campione di siero diluito nel punto di dispensazione della cassetta (figura 1D).
- Incubare per 15 ± 1 minuti (impostare un timer manuale).
- Caricare la cassetta nell'apposito vano a scorrere per cassetta del Quantum Blue® Reader.
- Eseguire immediatamente la scansione della cassetta del test con Quantum Blue® Reader premendo il

pulsante di inizio su QB2 oppure l'opzione “Avvia misurazione” su QB3G.

- Per i controlli basso / alto: ripetere il passaggio 2.2 usando 80 µL di controlli diluiti invece del siero diluito.



**Nota:** consultare il manuale del Quantum Blue® Reader per imparare le funzioni basilari e come inizializzare e far funzionare i lettori Quantum Blue® Reader, in particolare come selezionare i metodi di analisi e come caricare i parametri lotto-specifici dalla card chip RFID (QB2) / carta con codice a barre (QB3G) sul Quantum Blue® Reader. Accertarsi che la cassetta del test sia stata inserita correttamente nel Quantum Blue® Reader, con la finestra di lettura per prima (figura 1D).

## CONTROLLO DI QUALITÀ

- Se la prestazione del dosaggio non correla con i limiti stabiliti e la ripetizione del test esclude errori tecnici, si controllino i seguenti aspetti: i) dispositivi di pipettaggio, controllo della temperatura e tempo di incubazione ii) data di scadenza dei reagenti e iii) condizioni di conservazione e incubazione.
- I risultati del self-test, che viene eseguito quando si accende il Quantum Blue® Reader, deve essere valido.

## STANDARDIZZAZIONE

- Il materiale del calibratore è costituito da un anticorpo IgG umano monoclonale anti-infliximab in una matrice di siero umano. I parametri lotto-specifici della curva standard sono indicati nella scheda dati-QC allegata.
- Quantum Blue® Reader utilizza una curva standard lotto-specifica per calcolare la concentrazione di anticorpi anti-infliximab in equivalenti (µg<sub>eq</sub>/mL) rispetto al calibratore a base di IgG monoclonali anti-infliximab.
- Se la concentrazione del campione è inferiore a 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL, Quantum Blue® Reader indica il risultato come negativo <neg(-)>. I risultati pari o superiori a 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL sono indicati come positivi <pos(+)>.

## VALIDAZIONE DEI RISULTATI

- Per un risultato valido, la linea di controllo (C) deve essere visibile in ogni caso (vedere figura 1A e figura 1B). Tale linea rappresenta unicamente un controllo funzionale del test e non può essere utilizzata per interpretare la linea di rilevazione del test (T). Se la linea di test (T) non è rilevabile dopo 15 minuti d'incubazione (figura 1A), la concentrazione dell'Anti-Infliximab presente nel campione è di sotto al limite di rilevazione. Se la linea di test (T) è rilevabile dopo 15 minuti di incubazione (figura 1B), la concentrazione dell'Anti-Infliximab presente nel campione viene misurata tramite il Quantum Blue® Reader.

- Se è rilevabile solo la linea di test (T) dopo 15 minuti di incubazione (figura 1C), il risultato non è valido e il dosaggio dell'Anti-Infliximab deve essere ripetuto con una nuova cassetta.
- Se né la linea di controllo (C), né la linea di test (T) sono rilevabili dopo 15 minuti di incubazione (figura 1D), il risultato non è valido e il dosaggio dell'Anti-Infliximab deve essere ripetuto con una nuova cassetta.
- Dal momento che il Quantum Blue® Reader effettua una valutazione sia delle linee di test (T) che di controllo (C), lo strumento effettua una ulteriore verifica della linea di controllo (C). Se l'intensità di segnale della linea di controllo (C) è inferiore ad una soglia specifica preconfigurata dopo 15 minuti di incubazione, il risultato non è valido e il dosaggio dell'Anti-Infliximab deve essere ripetuto con una nuova cassetta.

## LIMITATIONI

- Il test Quantum Blue® Anti-Infliximab è un saggio farmaco-sensibile e pertanto può essere usato soltanto su campioni contenenti concentrazioni non rilevabili di infliximab.
- I reagenti forniti con questo kit sono ottimizzati per misurare i livelli di anticorpi anti-infliximab in campioni di siero.
- I risultati del test Quantum Blue® Anti-Infliximab devono essere interpretati congiuntamente ad altre evidenze cliniche e di laboratorio. Tra questi, si citano la determinazione dell'attività della malattia, la determinazione di livelli di valle di infliximab, nonché informazioni sull'aderenza alla terapia da parte del paziente.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Quantum Blue® Reader visualizza le seguenti categorie di risultati relativi al saggio Quantum Blue® Anti-Infliximab:

Risultato visualizzato	Interpretazione
neg(-)	Titolo di anticorpi anti-infliximab non rilevabile o basso
pos(+)	Titolo di anticorpi anti-infliximab elevato

Tabella 3

## DETERMINAZIONE DEL CUT-OFF

Per il saggio Quantum Blue® Anti-Infliximab è stato stabilito un cut-off di 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL per discriminare tra risultati positivi e negativi. Sono stati misurati centodiciannove (119) campioni clinici di siero prelevato da pazienti in terapia di mantenimento con infliximab mediante il saggio Quantum Blue® Anti-Infliximab e un kit ELISA disponibile in commercio. Nel caso del test ELISA di riferimento, per determinare i risultati negativi e positivi è stato applicato il cut-off clinico stabilito da Imbrechts et al. (rif. 1). Il cut-off è paragonabile al cut-off di 8 µg/mL del saggio del trial TAXIT (rif. 2), che era stato usato per escludere i pazienti con livelli elevati di anticorpi anti-infliximab dall'ottimizzazione della dose. Il cut-off di 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL risultato in una sensibilità dell'80,8% e una

specificità del 94,9% rispetto al metodo ELISA di riferimento.

## CARATTERISTICA DELLE PRESTAZIONI

Le seguenti caratteristiche di prestazione sono state stabilite con Quantum Blue® Reader 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> generazione.

Le caratteristiche prestazionali indicate si applicano a entrambe le generazioni di Reader.

### Confronto tra metodi

#### Concordanza tra saggi: 88%

Sono stati misurati centodiciannove (119) campioni clinici con 2 lotti di test Quantum Blue® Anti-Infliximab nell'arco di 4 giorni, ottenendo 238 valori, dei quali 102 negativi e 136 positivi. I valori di riferimento medi sono stati determinati con un test ELISA disponibile in commercio. Sono stati classificati come negativi o positivi sulla base dei cut-off stabiliti da Imbrechts et al. (rif. 1). È stata calcolata la concordanza totale dei valori positivi e negativi tra i due saggi. I risultati sono riassunti nella tabella 4.

### Precisione intra-laboratorio:

#### 96,1% - 100% all'interno della categoria

La riproducibilità e la precisione intra-laboratorio sono state determinate secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI usando un disegno di studio standad 20 giorni x 2 analisi x 2 replicati. Sono stati analizzati tre (3) campioni di siero aggregati: negativo, prossimo al cut-off e positivo. I risultati sono riassunti nella tabella 5.

### Riproducibilità: 88% - 100% all'interno della categoria

La riproducibilità è stata determinata secondo le linee guida EP05-A3 del CLSI applicando il seguente disegno di studio: 3 strumenti/lotti/operatori x 5 giorni x 5 replicati. Sono stati analizzati tre (3) campioni di siero aggregati: negativo, prossimo al cut-off e positivo. I risultati sono riassunti nella tabella 6.

### Limite di rilevabilità (LoD): 0,7 µg<sub>eq</sub>/mL

Il LoD è stato determinato secondo le linee guida EP17-A2 del CLSI e con percentuali di falsi positivi (α) inferiori al 5% e di falsi negativi (β) inferiori al 5% basandosi su 120 determinazioni, con 60 replicati del bianco e 60 replicati con bassi livelli, e un limite del bianco (LoB) di 0,4 µg<sub>eq</sub>/mL.

### Effetto "hook" delle concentrazioni elevate

Non sono stati osservati risultati negativi per campioni artificiali aventi concentrazioni teoriche di anticorpi anti-infliximab fino a 150 µg<sub>eq</sub>/mL. Lo studio è stato eseguito con due lotti di Quantum Blue® Anti-Infliximab.

## SOSTANZE INTERFERENTI

La sensibilità del saggio Quantum Blue® Anti-Infliximab alle sostanze interferenti è stata valutata secondo le linee guida EP07-A2 approvate dal CLSI. Le sostanze interferenti sono state testate a concentrazioni tre volte maggiori di quelle riportate o attese nei campioni clinici o ai livelli di concentrazione raccomandati dalle linee guida EP07-A2 del CLSI. Sono stati testati almeno 7 replicati per interferente. Un risultato di un solo replicato al di fuori della categoria è stato considerato come un'interferenza.

### **Bloccanti del TNF $\alpha$**

I bloccanti del TNF $\alpha$  sono stati testati a concentrazioni tre volte superiori a livelli intasamento più bassi raccomandati per il farmaco. Non è stata rilevata interferenza fino a 15 µg/mL per adalimumab (Humira®). È stata rilevata interferenza con la sostanza infliximab (Remicade®, 10 µg/mL). L'effetto interferente è stato ulteriormente caratterizzato tramite un test di dose-risposta. I risultati indicano che la presenza di anticorpi anti-infliximab può essere misurata solo in campioni con livelli non rilevabili di infliximab.

### **Parametri sierici**

Non sono emerse interferenze con le seguenti sostanze, fino alle concentrazioni indicate: trigliceridi (Intralipid® 1.320 mg/dL; equivalente a 37 mmol/L di trigliceridi), bilirubina coniugata (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirubina libera (342 µmol/L; 20,0 mg/dL), emoglobina (200 g/L) e fattori reumatoidi (796 UI/mL).

### **Immunosoppressori e altri medicinali**

Non sono emerse interferenze con le seguenti sostanze, fino alle concentrazioni indicate: azatioprina (10,8 µmol/L, 3,0 µg/mL), 6-mercaptopurina (13,1 µmol/L, 2,0 µg/mL) e metotrexato (149,6 µmol/L, 68,0 µg/mL).

## INDICACIONES DE USO

La prueba Quantum Blue® Anti-Infliximab es un inmunoensayo diagnóstico cualitativo *in vitro* para la detección de altas concentraciones de anticuerpos anti-infliximab en muestras de suero humano. El ensayo facilita la monitorización farmacoterapéutica en los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) y artritis reumatoide (AR) en tratamiento con infliximab. El ensayo se usa conjuntamente con otros datos clínicos y de laboratorio. Quantum Blue® Anti-Infliximab se combina con Quantum Blue® Reader.

Para uso en laboratorio.  
Europa: para uso profesional.

## PRINCIPIO DEL TEST

El ensayo permite la medición selectiva de los anticuerpos anti-infliximab mediante un inmunoensayo tipo *sandwich*. La intensidad de las señales de la línea de test (T) y de la línea de control (C) se mide con el lector Quantum Blue® Reader. Los resultados se notifican como negativos <neg(-)> o positivos <pos(+)>.

## REACTIVOS SUMINISTRADOS Y PREPARACIÓN

Reactivos	Cantidad		Código	Comentarios
	LF-ADIF25	LF-ADIF10		
<b>Cartucho de prueba</b>	25 unidades	10 unidades	B-LFADIF-TC	Sellado al vacío en una bolsa de aluminio
<b>Tampón de incubación</b>	1 frasco 10 mL	1 frasco 10 mL	B-LFADIF-CB	Listo para usar
<b>Controles Alto* / Bajo*</b>	2 viales, 0.1 mL	2 viales, 0.1 mL	B-LFADIF-CONSET	Diluir 1:10 en tampón de incubación antes del uso
<b>Tarjeta chip RFID</b>	1 unidad	1 unidad	B-LFADIF-RCC	Tarjeta de plástica <b>blanca</b>
<b>Tarjeta chip RFID</b>	1 unidad	1 unidad	B-LFADIF-RCC15	Tarjeta de plástica <b>verde</b>
<b>Tarjeta con código de barras</b>	1 unidad	1 unidad	B-LFADIF-BCC	Tarjeta de plástico con código de barras 2D

Tabla 1

\* Los controles son específicos del lote. Los controles bajo y alto deben notificarse como <neg(-)> y <pos(+)>, respectivamente.

## REVISE SU KIT DE PRUEBA

Los productos BÜHLMANN se fabrican con el máximo cuidado y realizando todos los esfuerzos posibles para asegurar que el kit de análisis está completo y su rendimiento es el esperado. No obstante, recomendamos que compruebe por sí mismo el kit de análisis y en particular el estado del cartucho de prueba y su bolsa conforme a los criterios siguientes:

- la validez de la fecha de caducidad.
- el estado libre de defectos de la bolsa (p.ej. la ausencia de cualquier perforación que pudiera haber sido provocada por manejo inadecuado).

- el estado libre de defectos del cartucho de prueba (p.ej. la ausencia de rayaduras en la membrana analítica).

Si alguno de los cartuchos de prueba no cumpliera los criterios anteriormente mencionados, utilice otro cartucho distinto.

## CONSERVACIÓN Y PERÍODO DE VALIDEZ DE LOS REACTIVOS

Reactivos antes de abrir	
Conservar a entre 2 y 8 °C. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.	
Reactivos abiertos	
Cartucho de prueba	Los casetes de prueba extraídos de la bolsa de aluminio deben utilizarse en un plazo de 4 horas.
Tampón de incubación	Conservar durante un máximo de 6 meses a entre 2 y 8 °C tras su apertura.
Controles Alto / Bajo	Conservar durante un máximo de 6 meses a entre 2 y 8 °C tras su apertura.

Tabla 2

## MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROVISTOS

- Vórtex
- Cronómetro (opcional)
- Pipetas de precisión con puntas desechables: 10-100 µL y 100-1000 µL
- Tubos de Eppendorf (o equivalentes) para la dilución de las muestras de suero
- Quantum Blue® Reader disponible de BÜHLMANN (código para pedidos: BI-POCTR-ABS)
- Guantes y bata de laboratorio

## PRECAUCIONES

### Precauciones de seguridad

- Ninguno de los reactivos de esta prueba tiene componentes de origen humano.
- Las muestras se deben manejar como si pudieran transmitir infecciones, manipulándose conforme a buenas prácticas de laboratorio tomando las precauciones apropiadas.
- Reactivos:** Evite que los reactivos entren en contacto con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona con agua abundante; de lo contrario, podría producirse irritación.
- La solución no utilizada se debe desechar conforme a las normativas locales, estatales y federales.

### Precauciones técnicas

#### Componentes del kit

- El análisis se debe realizar a temperatura ambiente (20-26 °C).
- Todos los reactivos y las muestras para análisis deben equilibrarse a temperatura ambiente antes de iniciar el ensayo.
- Una vez llevado a temperatura ambiente, retirar el cartucho de prueba de la bolsa de aluminio. Dejar reposar el cartucho de prueba en el laboratorio durante al menos 2 minutos antes de iniciar el ensayo.

- Mezclar bien (p.ej. mediante vórtex) los reactivos antes de usarlos.
- Los componentes no se deben utilizar más allá de la fecha de caducidad impresa en las etiquetas.
- No se deben mezclar reactivos de lotes diferentes.
- No se debe desmontar el cartucho de prueba.
- Los cartuchos de prueba no pueden ser reutilizados.
- Los cartuchos de prueba se debe manipular con cuidado. No se debe contaminar el puerto de carga de muestra ni la ventana de lectura de resultados mediante contacto con la piel, otros líquidos, etc. (figura 1D).
- El cartucho de prueba se debe mantener en posición horizontal, plana, mientras se realiza el ensayo.

### Procedimiento de análisis

- Lea atentamente las instrucciones antes de llevar a cabo el análisis. El rendimiento de la prueba se verá adversamente afectado si los reactivos se diluyen o se manipulan de manera incorrecta o se conservan en condiciones distintas de las indicadas en estas instrucciones de uso.
- Note que hay dos generaciones de lectores: El Quantum Blue® Reader de 2.ª generación con números de serie entre 1000 y 3000 (QB2) y el Quantum Blue® Reader de 3.ª generación con números de serie superiores a 3000 (QB3G).
- El lector QB2 debe encenderse y programarse para el ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab. Cargue el método de prueba utilizando la tarjeta chip RFID (B-LFADIF-RCC o B-LFADIF-RCC15), antes de iniciar el ensayo (véase el manual del Quantum Blue® Reader).
- El lector QB3G debe encenderse y programarse para el ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab ya sea usando la tarjeta de código de barras (B-LFADIF-BCC) o seleccionando la opción correspondiente en el menú de las pruebas (solo en el Fast Track Mode). Para más información, consulte el manual del Quantum Blue® Reader.
- Utilice la tarjeta chip RFID (QB2) / tarjeta de código de barras (QB3G) para cambiar parámetros de la prueba específicos del lote.
- Una manipulación incorrecta de las muestras de pacientes puede dar lugar a la obtención de resultados inexactos.
- Las muestras diluidas deben medirse en un plazo de 4 horas. Para una conservación más prolongada, conservar las muestras diluidas a 2-8 °C y medir en un plazo de 24 horas.

### RECOGIDA Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

Recoja la sangre en tubos para venopunción normales sin ningún aditivo y evitar la hemólisis. Preparar el suero conforme a las instrucciones del fabricante. Decantar el suero.

Las muestras de suero sin diluir pueden conservarse sin refrigerar (a temperaturas de hasta 28 °C) o a 2-8 °C durante un máximo de 15 días. Para una conservación más prolongada, conservar los extractos sin diluir a

≤−20 °C. Las muestras son estables durante al menos 3 meses a ≤−20 °C. No se deben realizar más de seis ciclos de congelación-descongelación.

### PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Utilice para el ensayo únicamente reactivos cuya temperatura se haya equilibrado con la temperatura ambiente. El cartucho de prueba se debe sacar de la bolsa de aluminio antes de iniciar el ensayo.

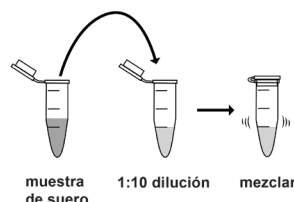
El procedimiento de ensayo consta de dos pasos:

#### 1. Dilución de muestras de suero y controles con tampón de incubación

Antes de la medición diluir la muestra de suero y los controles 1:10 con tampón de incubación (B-LFADIF-CB) (por ejemplo, mezclar 20 µL de muestra de suero o control con 180 µL de tampón de incubación en un tubo de ensayo) y mezclar con el agitador vorticial o mediante pipeteo o agitación.

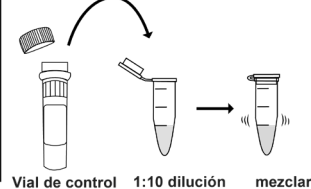
##### Dilución de las muestras de suero

p.ej. 20 µL de la muestra de suero con 180 µL de tampón de incubación



##### Dilución de control

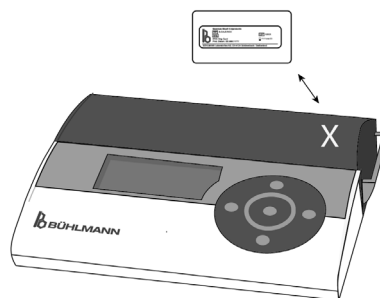
p.ej. 20 µL de control con 180 µL de tampón de incubación



#### 2. Procedimiento de ensayo y lectura de los resultados

##### QB2

Es posible cargar dos métodos alternativos a partir de sus respectivas tarjetas chip RFID: B-LFADIF-RCC15 (con cronómetro interno) o B-LFADIF-RCC (sin cronómetro interno). Seleccione una de las tarjetas chip RFID antes de iniciar los experimentos. Cargue el método de prueba de la tarjeta chip RFID en el Quantum Blue® Reader.



##### QB3G

Dos modos distintos de funcionamiento están disponibles para medir muestras con el lector QB3G: el Fast Track Mode y el Fail Safe Mode. Antes de comenzar el ensayo, verifique en cuál de los modos está funcionando el lector. El método de prueba puede cargarse desde la tarjeta de código de barras (tanto en el Fast Track Mode como en el Fail Safe Mode) o, si se ha utilizado previamente, seleccionarse desde el menú de las pruebas (solo en el Fast Track Mode). En el Fast Track Mode, las mediciones pueden realizarse con el temporizador interno o sin él. Las mediciones en el Fail Safe Mode solo pueden realizarse con el temporizador interno.

Siga las instrucciones mostradas en la pantalla del lector QB3G. Puede consultar asimismo las guías rápidas del lector QB3G para el Fast Track Mode y el Fail Safe Mode.



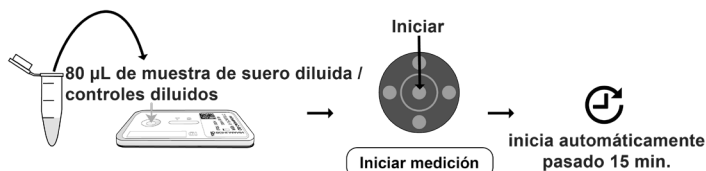
## 2.1. Método con cronómetro interno

**QB2:** utilice la tarjeta chip RFID verde B-LFADIF-RCC15

**QB3G (Fast Track Mode):** cuando el lector QB3G pregunte si omitir el tiempo de incubación, seleccione «NO»

**QB3G (Fail Safe Mode):** ajuste predeterminado

- Retire el cartucho de prueba de su embalaje. Deje que el cartucho de prueba se equilibre en el entorno del laboratorio durante como mínimo 2 minutos.
- Añada 80 µL de muestra de suero diluida en el puerto de carga de muestra del cartucho de prueba (figura 1D).
- Inserte el cartucho de prueba en el portacasetes de prueba del Quantum Blue® Reader.
- Cierre el soporte del cartucho de prueba e inicie la medición presionando el botón de iniciar en el lector QB2 o la opción «Iniciar medición» en el lector QB3G.
- La lectura se inicia automáticamente pasados 15 minutos.
- Para los controles bajo y alto: Repita el paso 2.1 utilizando 80 µL de controles diluidos en lugar de suero diluido.



## 2.2. Método sin cronómetro interno

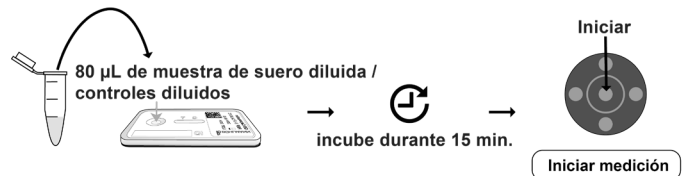
**QB2:** utilice la tarjeta chip RFID blanca B-LFADIF-RCC

**QB3G (Fast Track Mode):** cuando el lector QB3G pregunte si omitir el tiempo de incubación, seleccione «SÍ»

**QB3G (Fail Safe Mode):** opción no disponible

- Retire el cartucho de prueba de su embalaje. Deje que el cartucho de prueba se equilibre en el entorno del laboratorio durante como mínimo 2 minutos.

- Añada 80 µL de muestra de suero diluida en el puerto de carga de muestra del cartucho de prueba (figura 1D).
- Incube la muestra durante  $15 \pm 1$  minutos (arranque un cronómetro manualmente).
- Inserte el cartucho de prueba en el portacasetes de prueba del Quantum Blue® Reader.
- Escanee inmediatamente el cartucho de prueba con el Quantum Blue® Reader presionando el botón de iniciar en el QB2 o la opción «Iniciar medición» en el QB3G.
- Para los controles bajo y alto: Repita el paso 2.2 usando 80 µL de controles diluidos en lugar de suero diluido.



**Nota:** Consulte el manual de su Quantum Blue® Reader para conocer las funciones básicas y los procedimientos de inicialización y funcionamiento de los lectores Quantum Blue® Reader, en particular cómo seleccionar los métodos de prueba y cómo cargar los parámetros específicos del lote desde la tarjeta con chip RFID (QB2) o la tarjeta de código de barras (QB3G) en el lector Quantum Blue®. Inserte correctamente el cartucho de prueba en el Quantum Blue® Reader, con la ventana de lectura primero (figura 1D).

## CONTROL DE CALIDAD

- Si el rendimiento del análisis no se correlaciona con los límites establecidos y la repetición excluye los errores en la técnica, compruebe los siguientes puntos: i) pipeteado, control de la temperatura y tiempo; ii) fechas de caducidad de los reactivos, y iii) condiciones de conservación e incubación.
- La autocomprobación (calibration check) del dispositivo Quantum Blue® que se realiza tras encender el Quantum Blue® Reader tiene que ser válida.

## ESTANDARIZACIÓN

- El material del calibrador es un anticuerpo monoclonal humano IgG anti-infliximab en una matriz de suero humano. Los parámetros de la curva de calibración específicos del lote se indican en la ficha de datos de control de calidad adjunta.
- Quantum Blue® Reader calcula la concentración de anticuerpos anti-infliximab en equivalentes ( $\mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$ ) al calibrador monoclonal IgG anti-infliximab mediante una curva de calibración específica para cada lote.
- Quantum Blue® Reader notifica un resultado negativo, <neg(-)>, si la concentración de la muestra es inferior a  $1,3 \mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$ . Si el resultado es igual o superior a  $1,3 \mu\text{g}_{\text{eq}}/\text{mL}$  se notificará como positivo (<pos(+)>).



## VALIDACIÓN DE LOS RESULTADOS

- Para la obtención de un resultado válido de la prueba, la línea control (C) debe ser visible en cualquier caso (véanse las figura 1A y figura 1B). Se usa sólo como control funcional de la prueba y no puede usarse para la interpretación de la línea de test (T). Si la línea de test (T) no es detectable después de 15 minutos de incubación (figura 1A), no hay cantidades detectables de anti-infliximab presentes en la muestra de suero. Si la línea de test (T) es detectable después de 15 minutos de incubación (figura 1B), la cantidad de anti-infliximab presente en la muestra de suero se calcula mediante el Quantum Blue® Reader.
- Si sólo la línea de test (T) es detectable después de 15 minutos de tiempo de incubación (figura 1C), el resultado de la prueba no es válido y el análisis de anti-infliximab debe repetirse con un cartucho de prueba nuevo.
- Si ni la línea control (C) ni la línea de test (T) se detectan después de 15 minutos de tiempo de incubación (figura 1D), el resultado de la prueba no es válido y el análisis de anti-infliximab debe repetirse con un cartucho de prueba nuevo.
- Como el Quantum Blue® Reader permite la evaluación de las líneas de test (T) y control (C), se realiza una validación adicional de la validez de la línea control (C). Si la intensidad de la línea control (C) es inferior a un umbral específico preconfigurado después de 15 minutos de tiempo de incubación, el resultado de la prueba no es válido y el análisis de anti-infliximab debe repetirse con un cartucho de prueba nuevo.

## LIMITACIONES

- El ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab es un ensayo sensible al fármaco y, por lo tanto, solo puede utilizarse en muestras con concentraciones de infliximab no detectables.
- Los reactivos suministrados con este kit están optimizados para medir la concentración de anticuerpos anti-infliximab en muestras de suero.
- Los resultados de Quantum Blue® Anti-Infliximab deberían interpretarse conjuntamente con otros datos clínicos y de laboratorio. Estos pueden incluir la determinación de la actividad de la enfermedad, la determinación de los valores mínimos de concentración del infliximab e informaciones sobre el cumplimiento terapéutico del paciente.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Quantum Blue® Reader muestra las siguientes categorías de resultados para el ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab:

Resultado	Interpretación
neg(-)	Concentración de anticuerpos anti-infliximab baja o indetectable
pos(+)	Alta concentración de anticuerpos anti-infliximab

Tabla 3

## DETERMINACIÓN DEL VALOR DE CORTE

Se estableció un valor de corte de 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL para el ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab para distinguir entre resultados negativos y positivos. Se midieron ciento diecinueve (119) muestras clínicas de suero de pacientes en tratamiento de mantenimiento con infliximab con el ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab y con un kit ELISA disponible en el mercado. Se utilizó el valor de corte clínico de Imbrechts *et al.* para determinar los resultados negativos y positivos en el ensayo ELISA de referencia (ref. 1). El valor de corte es equivalente al valor de corte de 8 µg/mL del ensayo TAXIT (ref. 2), que se utilizó para excluir de la optimización de la dosis a los pacientes con concentraciones elevadas de anticuerpos anti-infliximab. El valor de corte de 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL arrojó una sensibilidad del 80,8% y una especificidad del 94,9% cuando se comparó con el método ELISA de referencia.

## CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Las características indicadas a continuación han sido establecidas con el Quantum Blue® Reader de 2ª y 3ª generación.

Las características indicadas aplican para ambas generaciones del Quantum Blue® Reader.

### Comparación de métodos

#### Acuerdo entre los ensayos: 88%

Se midieron ciento diecinueve (119) muestras clínicas con 2 lotes del ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab durante 4 días; de los 238 valores obtenidos, 102 resultaron negativos y 136 positivos. Los valores medios de referencia se establecieron con un ensayo ELISA disponible en el mercado. Estos se clasificaron como negativos o positivos sobre la base del valor de corte de Imbrechts *et al.* (ref. 1). Se calculó la concordancia total de los valores positivos y negativos entre ambos ensayos. Los resultados se resumen en la tabla 4.

#### Precisión dentro del laboratorio:

##### 96,1% - 100% dentro de cada categoría

La repetibilidad y la precisión dentro del laboratorio se determinaron de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI con un diseño de estudio estandarizado de 20 días × 2 series × 2 repeticiones. Se analizaron tres (3) muestras de mezcla de sueros: negativa, próxima al valor de límite y positiva. Los resultados se resumen en la tabla 5.

#### Reproducibilidad: 88% - 100% dentro de cada categoría

La reproducibilidad se determinó de acuerdo con la norma EP05-A3 del CLSI con un diseño de 3 instrumentos/lotas/operadores × 5 días × 5 repeticiones. Se analizaron tres (3) muestras de mezcla de sueros: negativa, próxima al valor de límite y positiva. Los resultados se resumen en la tabla 6.

#### Límite de detección (LoD): 0,7 µg<sub>eq</sub>/mL

El LoD se estableció conforme a la norma EP17-A2 del CLSI, con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y de falsos negativos (β) inferiores al 5% sobre la base de 120 determinaciones, con 60 réplicas del blanco y 60 de concentración baja, y un límite del blanco (LoB) de 0,4 µg<sub>eq</sub>/mL.

### **Efecto gancho a dosis altas**

No se observaron resultados negativos en las muestras elaboradas con concentraciones teóricas de anticuerpos anti-infliximab de hasta 150 µg<sub>eq</sub>/mL. El estudio se realizó con dos lotes de Quantum Blue® Anti-Infliximab.

---

## **SUSTANCIAS INTERFERENTES**

La sensibilidad del ensayo Quantum Blue® Anti-Infliximab a las sustancias interferentes se evaluó conforme a la norma EP07-A2 del CLSI. Se analizaron sustancias interferentes a concentraciones tres veces superiores a las notificadas o esperadas en las muestras clínicas o a las concentraciones recomendadas por la norma EP07-A2 del CLSI. Se analizaron un mínimo de 7 réplicas por interferente. Un resultado fuera de categoría para una sola réplica se consideró interferencia.

### **Inhibidor del TNF $\alpha$**

Los inhibidores del TNF $\alpha$  se analizaron a concentraciones tres veces superiores a la concentración mínima recomendada del fármaco. No se detectó interferencia con dosis de hasta 15 µg/mL de adalimumab (Humira®). Se detectó interferencia con la sustancia infliximab (Remicade®, 10 µg/mL). El efecto de interferencia se caracterizó además mediante un ensayo de respuesta a la dosis. Los resultados indican que la presencia de anticuerpos anti-infliximab solo puede evaluarse en muestras con valores indetectables de infliximab.

### **Índices séricos**

No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias, hasta las concentraciones especificadas: triglicéridos (Intralipid® 1320 mg/dL; equivalente a 37 mmol/L de triglicéridos), bilirrubina directa (342 µmol/L; 29 mg/dL), bilirrubina indirecta (342 µmol/L; 20,0 mg/dL), hemoglobina (200 g/L) y factor reumatoide (796 UI/mL).

### **Inmunosupresores y otros fármacos**

No se detectaron interferencias con las siguientes sustancias, hasta las concentraciones especificadas: azatioprina (10,8 µmol/L, 3,0 µg/mL), 6-mercaptopurina (13,1 µmol/L, 2,0 µg/mL) y metotrexato (149,6 µmol/L, 68,0 µg/mL).

## USO PRETENDIDO

O teste Quantum Blue® Anti-Infliximab consiste em um imunoensaio de diagnóstico *in vitro* qualitativo para detecção de títulos altos de anticorpos anti-infliximabe em amostras de soro humano. O teste serve como auxiliar na monitorização da terapêutica medicamentosa em pacientes com doenças intestinais inflamatórias (DII) e artrite reumatoide (RA) que estejam recebendo terapia com infliximabe. O teste é usado em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais. O Quantum Blue® Anti-Infliximab é combinado com o Quantum Blue® Reader.

Para uso em laboratório.  
Europa: para uso profissional.

## PRINCÍPIO DO TESTE

O teste se destina à medição seletiva dos anticorpos anti-infliximabe por imunoensaio tipo sanduíche. As intensidades dos sinais da linha de teste (T) e da linha de controle (C) são medidas pelo Quantum Blue® Reader. Os resultados são indicados como negativos, <neg(-)> ou positivos, <pos(+)>.

## REAGENTES FORNECIDOS E PREPARAÇÃO

Reagentes	Quantidade		Código	Observações
	LF-ADIF25	LF-ADIF10		
Cassete de teste	25 unidades	10 unidades	B-LFADIF-TC	Embalagem selada a vácuo
Tampão de diluição	1 frasco 10 mL	1 frasco 10 mL	B-LFADIF-CB	Pronto para uso
Controles Baixo*/Alto*	2 frascos, 0.1 mL	2 frascos, 0.1 mL	B-LFADIF-CONSET	Dilua a 1:10 no tampão de diluição antes de usar
Cartão Chip RFID	1 pedaço	1 pedaço	B-LFADIF-RCC	Cartão de plástico <b>branco</b>
Cartão Chip RFID	1 pedaço	1 pedaço	B-LFADIF-RCC15	Cartão de plástico <b>verde</b>
Cartão de código de barras	1 pedaço	1 pedaço	B-LFADIF-BCC	Cartão de código de barras de plástico 2D

Tabela 1

\*Os controles são específicos a cada lote. Os controles baixo e alto devem ser indicados como <neg(-)> e <pos(+)>, respectivamente.

## CONFIRA SEU KIT

Os produtos BÜHLMANN foram fabricados com o máximo cuidado e foram enviados todos os esforços para assegurar a integralidade deste kit de teste e o seu desempenho. Não obstante, aconselhamos a verificar as condições do cassete de teste e da sua respectiva embalagem no kit com base nos seguintes critérios:

- data de validade.
- ausência de danos na embalagem (p. ex., inexistência de perfurações que possam ser causadas por manipulação imprópria).
- ausência de danos no cassete de teste (p. ex., ausência de riscos na membrana analítica).

Caso algum dos cassetes de teste não cumpra os critérios acima indicados, substitua-a por outro.

## ARMAZENAMENTO E VALIDADE DOS REAGENTES

Reagentes não abertos	
Guarde a uma temperatura na faixa de 2-8 °C. Não use os reagentes depois da data de validade impressa nas etiquetas.	
Reagentes abertos	
Cassete de teste	Os cassetes de teste removidos da embalagem aluminizada devem ser usados dentro de 4 horas.
Tampão de diluição	Depois de abrir, guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2-8 °C.
Controles Baixo / Alto	Depois de abrir, guarde por até 6 meses a uma temperatura na faixa de 2-8 °C.

Tabela 2

## MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Vórtex
- Cronômetro (opcional)
- Pipetas de precisão com pontas descartáveis: 10-100 µL e 100-1000 µL
- Tubos Eppendorf (ou equivalentes) para diluição das amostras de soro
- Quantum Blue® Reader disponível na BÜHLMANN (referência: BI-POCTR-ABS)
- Luvas e avental de laboratório

## PRECAUÇÕES

### Precauções de segurança

- Nenhum reagente deste kit contém componentes de origem humana.
- Amostras devem ser manuseadas como transmissoras de doenças infecciosas e de acordo com as boas práticas laboratoriais.
- Reagentes: Evite o contato dos reagentes com a pele, os olhos ou as membranas mucosas. Em caso de contato, lave imediatamente com água em abundância, caso contrário, poderá ocorrer irritação.
- As soluções não utilizadas devem ser eliminadas de acordo com a Regulamentação das Entidades Governamentais Locais.

### Precauções técnicas

#### Componentes do kit

- O teste deve ser realizado à temperatura ambiente (20-26 °C).
- Todos os reagentes e amostras de teste devem ser equilibrados à temperatura ambiente antes do início do ensaio.
- Uma vez equilibrado à temperatura ambiente, remova o cassete de teste da embalagem aluminizada. Antes de iniciar o ensaio, aguarde até pelo menos 2 minutos para que o cassete de teste atinja o equilíbrio com o ambiente do laboratório.
- Misture bem (p. ex., no vórtex) os reagentes antes de usar.

- Os componentes não podem ser utilizados após a data de validade impressa nos rótulos.
- Não misture lotes de reagentes diferentes.
- Não desmonte a cassete de teste.
- Os cassetes de teste não podem ser reutilizados.
- Manuseie os cassetes de teste com cuidado. Não contamine a zona de introdução da amostra ou a janela de leitura por contato com a pele, outros líquidos, etc. (figura 1D).
- Assegure-se de que mantém o cassete de teste na horizontal enquanto realiza o teste.

### Procedimento do teste

- Leia cuidadosamente as instruções antes de realizar o teste. O desempenho do teste é afetado negativamente se os reagentes forem incorretamente diluídos, manuseados ou conservados em condições que não as indicadas nestas instruções de utilização.
- Note que há duas gerações de leitores: O Quantum Blue® Reader de 2ª geração com números de série entre 1000 e 3000 (QB2) e o Quantum Blue® Reader de 3ª geração com números de série acima de 3000 (QB3G).
- O leitor QB2 deve ser ligado e programado para o teste Quantum Blue® Anti-Infliximab. Antes de iniciar o ensaio, carregue o método do ensaio usando o cartão com chip RFID (B-LFADIF-RCC ou B-LFADIF-RCC15) (ver manual do Quantum Blue® Reader).
- O leitor QB3G deve ser ligado e programado para o teste Quantum Blue® Anti-Infliximab usando-se o cartão de código de barras (B-LFADIF-BCC) ou selecionando-se no menu do teste (somente para o Fast Track Mode). Para mais informações, consulte o manual do Quantum Blue® Reader.
- Utilize o cartão com chip RFID (QB2) / cartão de código de barras (QB3G) para alterar parâmetros do teste específicos de cada lote.
- As amostras que não sejam corretamente manuseadas podem causar resultados inexatos.
- As amostras diluídas devem ser medidas dentro de 4 horas. Para períodos de armazenamento mais longos, mantenha as amostras diluídas a uma temperatura na faixa de 2-8 °C e faça as medições dentro de até 24 horas.

### COLETA E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Colete o sangue em tubos simples por venopunção sem nenhum aditivo, evitando hemólise. Execute a preparação do soro de acordo com as instruções do fabricante. Decante o soro.

As amostras não diluídas de soro podem ser armazenadas sem refrigeração (temperaturas até 28 °C) ou a uma temperatura na faixa de 2-8 °C por até 15 dias. Para períodos de armazenamento mais longos, mantenha as amostras não diluídas de soro a  $\leq -20$  °C. As amostras permanecem estáveis por até 3 meses a  $\leq -20$  °C. Evite uma quantidade superior a seis ciclos de congelamento-descongelamento.

### PROCEDIMENTO DO ENSAIO

Para o teste, use somente reagentes equilibrados à temperatura ambiente. O cassete de teste deve ser removido da embalagem metalizada antes do começo do teste.

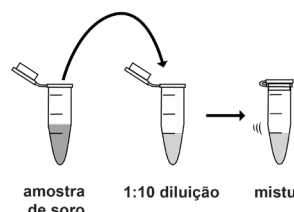
O procedimento do ensaio consiste em dois passos:

#### 1. Diluição de amostras de soro e controles com o tampão de diluição

Antes de fazer a medição, dilua as amostras de soro e os controles a 1:10 com o tampão de diluição (B-LFADIF-CB) (e.g., misture 20 µL da amostra de soro ou controle com 180 µL do tampão de diluição em um tubo de ensaio) e misture por vórtex, pipetagem ou agitação.

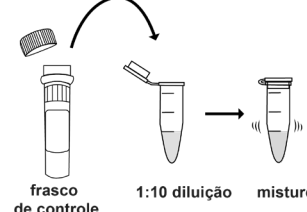
##### Diluição das amostras de soro

p. ex. 20 µL de amostra de soro com 180 µL de tampão de diluição



##### Diluição do controle

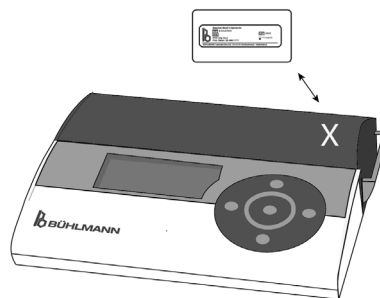
p. ex. 20 µL do controle com 180 µL de tampão de diluição



#### 2. Procedimento e leitura do ensaio

##### QB2

É possível carregar dois métodos alternativos do respectivo cartão com chip RFID: B-LFADIF-RCC15 (com cronômetro interno) ou B-LFADIF-RCC (sem cronômetro interno). Selecione um dos cartões com chip RFID antes de iniciar as experiências. Carregue o método de teste do cartão com chip RFID no Quantum Blue® Reader.



##### QB3G

Dois modos de operação diferentes são disponibilizados para a medição de amostras com o QB3G: Fast Track Mode e Fail Safe Mode. Antes do início do teste, informe-se para identificar o modo de operação do seu leitor.

O método de teste pode ser carregado a partir do cartão de código de barras (Fast Track Mode e Fail Safe Mode) ou selecionado no menu do teste, se já houver sido usado anteriormente (somente para o Fast Track Mode). As medições podem ser realizadas com ou sem um cronômetro interno no Fast Track Mode. No Fail Safe Mode, as medições somente podem ser feitas com um cronômetro interno.

Siga as instruções fornecidas na tela do QB3G. Também é possível consultar os Guias Rápidos do QB3G para o Fast Track Mode e o Fail Safe Mode.



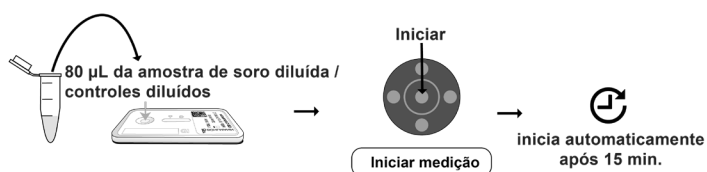
## 2.1. Método com cronômetro interno

**QB2:** utilize o cartão chip RFID verde B-LFADIF-RCC15

**QB3G (Fast Track Mode):** quando o QB3G perguntar se você deseja ignorar o tempo de incubação, selecione “NÃO”

**QB3G (Fail Safe Mode):** configuração padrão

- Desembale o cassete do teste. Aguarde até pelo menos 2 minutos para que o cassete de teste atinja o equilíbrio com a temperatura ambiente do laboratório.
- Adicione 80 µL da amostra de soro diluída na zona de introdução da amostra do cassete de teste (figura 1D).
- Introduza o cassete de teste no suporte para ele existente no Quantum Blue® Reader.
- Feche o porta-cassete e inicie a medição pressionando o botão de iniciar no QB2, ou a opção "Iniciar medição" no QB3G.
- A leitura inicia-se automaticamente após 15 minutos.
- Para os controles baixo / alto: Repita a etapa 2.1 usando 80 µL de controles diluídos em vez de soro diluído.



## 2.2. Método sem cronômetro interno

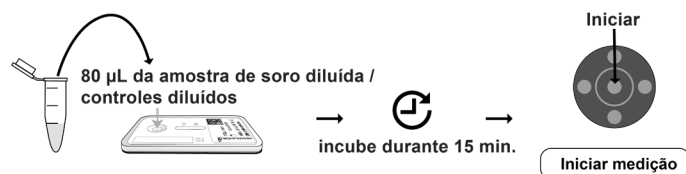
**QB2:** utilize o cartão chip RFID branco B-LFADIF-RCC

**QB3G (Fast Track Mode):** quando o QB3G perguntar se você deseja ignorar o tempo de incubação, selecione “SIM”

**QB3G (Fail Safe Mode):** opção não disponível

- Desembale o cassete do teste. Aguarde até pelo menos 2 minutos para que o cassete de teste atinja o equilíbrio com a temperatura ambiente do laboratório.
- Adicione 80 µL da amostra de soro diluída na zona de introdução da amostra do cassete de teste (figura 1D).
- Incube durante 15 ± 1 minutos (programme manualmente um cronômetro).
- Introduza o cassete de teste no suporte para ele existente no Quantum Blue® Reader.

- Faça a leitura do cassete do teste com o Quantum Blue® Reader imediatamente pressionando o botão de iniciar no QB2, ou a opção "Iniciar medição" no QB3G.
- Para os controles baixo / alto: Repita a etapa 2.2 usando 80 µL de controles diluídos em vez de soro diluído.



**Nota:** Consulte o manual do Quantum Blue® Reader para conhecer as funções básicas e saber como inicializar e operar os Quantum Blue® Readers, especialmente como selecionar métodos de teste e como carregar parâmetros específicos a cada lote a partir do cartão RFID com chip (QB2) / cartão de código de barras (QB3G) no Quantum Blue® Reader. Certifique-se de inserir o cassete do teste corretamente no Quantum Blue® Reader, começando pela janela de leitura (figura 1D).

## CONTROLE DE QUALIDADE

- Se o desempenho do teste não se correlacionar com os limites estabelecidos e as repetições excluem erros técnicos, verifique o seguinte: i) pipetagem, temperatura e tempos dos diferentes passos, ii) data validade dos reagentes e iii) condições armazenamento e incubação.
- A autocalibração do Quantum Blue® Reader (calibration check) quando é iniciado tem que ser válida.

## ESTANDARDIZAÇÃO

- O material do calibrador é um anticorpo monoclonal IgG humano anti-infliximabe em uma matriz de soro humano. Os parâmetros da curva padrão específicos ao lote estão indicados na folha de dados de CQ anexa.
- O Quantum Blue® Reader utiliza uma curva de calibração específica ao lote para calcular a concentração de anti-infliximabe em equivalentes (µg<sub>eq</sub>/mL) para o calibrador do IgG monoclonal anti-infliximabe.
- O Quantum Blue® Reader indica o resultado como negativo, <neg(-)> se a concentração da amostra ficar abaixo de 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL. Resultados iguais ou superiores a 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL são indicados como positivos, <pos(+)>.

## VALIDAÇÃO DOS RESULTADOS

- Em um resultado válido, a linha de controle (C) tem que ser sempre visível (ver figura 1A e figura 1B). É um teste de controle/validação que não pode ser usado para interpretar a linha de teste (T). Se a linha de teste (T) não for detectável após os 15 min de incubação (figura 1A), a concentração de anti-infliximabe presente na amostra é inferior ao limite de detecção. Se a linha de teste (T) for detectável após os 15 min de incubação (figura 1B), a concentração da

anti-infliximabe presente é calculada pelo Quantum Blue® Reader.

- Se apenas a linha de teste (T) for detectável após os 15 min de incubação (figura 1C), o resultado do teste é inválido e o teste de anti-infliximabe tem que ser repetido com outro cassete.
- Se nem a linha de controle (C) nem a linha de teste (T) forem detectáveis após 15 min de incubação (figura 1D), o resultado do teste é inválido e o teste de anti-infliximabe tem que ser repetido com outro cassete.
- Como o Quantum Blue® Reader permite a avaliação das linhas de teste (T) e de controle (C), há uma validação adicional da linha de controle (C). Se a intensidade do sinal da linha de controle (C) for inferior a um limiar pré-configurado específico à determinada para esse lote após 15 min de incubação, o resultado do teste é inválido e o teste de anti-infliximabe tem que ser repetido com outro cassete.

## LIMITAÇÕES

- O Quantum Blue® Anti-Infliximab é um teste sensível a medicamentos e, portanto, somente pode ser usado em amostras com concentrações não detectáveis de infliximabe.
- Os reagentes fornecidos com este kit são otimizados para medir níveis de anticorpos anti-infliximabe em amostras de soro.
- Os resultados do teste Quantum Blue® Anti-Infliximab devem ser interpretados em conjunto com outros resultados clínicos e laboratoriais. Isto inclui a determinação da atividade de doenças, determinação de níveis mínimos de infliximabe, e informações sobre a adesão do paciente à terapia.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O Quantum Blue® Reader exibe as seguintes categorias de resultados para o teste Quantum Blue® Anti-Infliximab:

Display	Interpretação
neg(-)	Título de anticorpos anti-infliximabe baixo ou não detectável
pos(+)	Título de anticorpos anti-infliximabe alto

Tabela 3

## DETERMINAÇÃO DO VALOR DE CORTE

O valor de corte de 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL foi determinado para o teste Quantum Blue® Anti-Infliximab para permitir a distinção entre resultados positivos e negativos. Cento e dezenove (119) amostras clínicas de soro de pacientes submetidos a terapia de manutenção com infliximabe foram medidas com o teste Quantum Blue® Anti-Infliximab e com um kit ELISA comercialmente disponível. Um valor de corte determinado por Imbrechts et al. foi usado para determinar resultados negativos e positivos para o teste ELISA de referência (ref. 1). O valor de corte é comparável ao corte de 8 µg/mL do ensaio TAXIT (ref. 2), que foi usado para excluir pacientes com altos níveis de anticorpos anti-infliximabe da otimização de dose. O valor de corte de 1,3 µg<sub>eq</sub>/mL resultou em uma sensibilidade de

80,8% e uma especificidade de 94,9% em comparação ao método ELISA de referência.

## CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

As seguintes características de desempenho foram estabelecidas com o Quantum Blue® Reader 2ª e 3ª geração.

As características de desempenho indicadas se aplicam às duas gerações do leitor.

### Comparação de métodos

#### Concordância do ensaio: 88%

Cento e dezenove (119) amostras clínicas foram medidas com 2 lotes do teste Quantum Blue® Anti-Infliximab por 4 dias, resultando em 238 valores, dos quais 102 foram negativos e 136 positivos. Valores médios de referência foram determinados com um ensaio ELISA comercialmente disponível. Estes foram classificados como negativos ou positivos de acordo com os valores de corte determinados por Imbrechts et al. (Ref. 1). A concordância total de valores positivos e negativos entre ambos os ensaios foi calculada. Os resultados estão resumidos na tabela 4.

#### Precisão intralaboratorial: 96,1% - 100% intracategoria

A repetibilidade e a precisão intralaboratorial foram determinadas de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se o arranjo de estudo padrão de 20 dias x 2 corridas x 2 replicatas. Três (3) amostras de soro agrupadas foram testadas: negativa, próxima ao valor de corte e positiva. Os resultados estão resumidos na tabela 5.

#### Reprodutibilidade: 88 – 100% intracategoria

A reprodutibilidade foi determinada de acordo com a diretriz EP05-A3 do CLSI, usando-se um arranjo de estudo de 3 instrumentos/lotas/operadores x 5 dias x 5 replicatas. Três (3) amostras de soro agrupadas foram testadas: negativa, próxima ao valor de corte e positiva. Os resultados estão resumidos na tabela 6.

#### Limite de detecção (LoD): 0,7 µg<sub>eq</sub>/mL

O LoD foi determinado de acordo com a diretriz EP17-A2 do CLSI e com as proporções de falsos positivos (α) inferiores a 5% e falsos negativos (β) inferiores a 5% com base em 120 determinações, com 60 brancos e 60 replicatas de baixo nível; e um LoB de 0,4 µg<sub>eq</sub>/mL.

#### Efeito gancho com dose elevada

Nenhum resultado negativo foi observado para amostras artificiais com concentrações teóricas de anti-infliximabe de até 150 µg<sub>eq</sub>/mL. O estudo foi realizado com dois lotes de Quantum Blue® Anti-Infliximab.

---

## SUBSTÂNCIAS INTERFERENTES

A suscetibilidade do teste Quantum Blue® Anti-Infliximab a substâncias interferentes foi avaliada de acordo com a diretriz EP07-A2, aprovada pelo CLSI. As substâncias interferentes foram testadas a concentrações três vezes maiores que aquelas reportadas ou esperadas em amostras clínicas, ou em níveis de concentração recomendados pela diretriz EP07-A2 do CLSI. Foram testadas pelo menos 7 replicatas por interferente. Um resultado fora da categoria para uma única replicata foi considerado como interferência.

### Bloqueador de TNF $\alpha$

Bloqueadores de TNF $\alpha$  foram testados a concentrações três vezes acima dos níveis válidos mais baixos recomendados para o medicamento. Nenhuma interferência foi detectada até 15 µg/mL para o adalimumabe (Humira®). Detectou-se interferência com a substância infliximabe (Remicade®, 10 µg/mL). O efeito da interferência foi adicionalmente caracterizado por um teste de dose-resposta. Os resultados indicaram que a presença de anti-infliximabe somente pode ser avaliada em amostras com níveis não detectáveis de infliximabe.

### Índices séricos

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: Triglicérides (1320 mg/dL de Intralipid®, equivalente a 37 mmol/L de triglicérides), bilirrubina conjugada (342 µmol/L, 29 mg/dL), bilirrubina não conjugada (342 µmol/L, 20,0 mg/dL), hemoglobina (200 g/L), e fatores reumatóides (796 UI/mL).

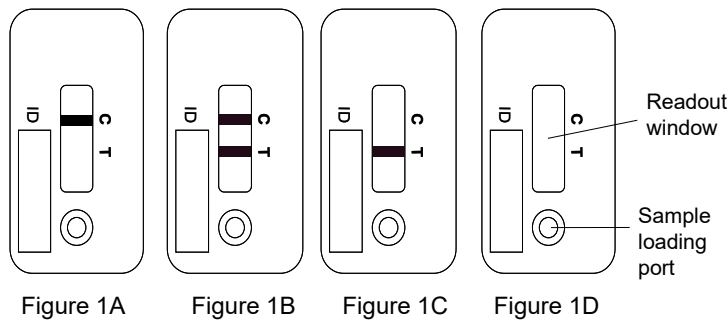
### Imunossupressores e outros medicamentos

Nenhuma interferência foi detectada com as seguintes substâncias até as concentrações listadas: azatioprina (10,8 µmol/L, 3,0 µg/mL), 6-mercaptopurina (13,1 µmol/L, 2,0 µg/mL) e metotrexato (149,6 µmol/L, 68,0 µg/mL).

APPENDIX I

TABLES AND FIGURES/ TABELLEN UND ABBILDUNGEN / TABLES ET FIGURES / TABELLE E FIGURE /  
TABLAS Y FIGURAS / TABELAS E FIGURAS

Test results



Method Comparison

		Comparator		
		Negative	Positive	Total
Quantum Blue® Anti-Infliximab	Negative	47.1%	9.7%	56.7%
	Positive	2.5%	40.8%	43.3%
	Total	49.6%	50.4%	100.0%
		87.9%		

Table 4

Repeatability / Within-Laboratory Precision

Sample	Description	n	Mean conc. [µg <sub>eq</sub> /mL]	% Within category
S1	Negative	80	0.06	100
S2	Close to cut-off	80	0.91	96.1
S3	High Positive	80	2.56	100

Table 5

Reproducibility

Sample	Description	n	Mean conc. [µg <sub>eq</sub> /mL]	% Within category
S1	Negative	75	0.04	100
S2	Close to cut-off	75	1.01	88
S3	High Positive	75	4.89	100

Table 6



---

## APPENDIX II

### REFERENCES/ REFERENZEN / RÉFÉRENCES / RIFERIMENTI / REFERENCIAS / REFERÊNCIAS

1. Imbrechts M et al.: Anti-infliximab antibodies: How to compare old and new data? J Pharm Biomed Anal. 177, 112842 (2020)
2. Vande Casteele N et al.: Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. Gastroenterology. 148(7),1320-9.e3 (2015)



---

## **APPENDIX IV**

### **INCIDENT REPORTING IN EU MEMBER STATES**

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

### **MELDUNG VON ZWISCHENFÄLLEN IN EU-MITGLIEDSSTAATEN**

Falls sich ein ernsthafter Zwischenfall in Zusammenhang mit diesem Produkt ereignet hat, bitte melden Sie dies umgehend dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedsstaates.

### **RAPPORTS D'INCIDENTS DANS LES ÉTATS MEMBRES DE L'UE**

En cas d'incident grave en lien avec ce dispositif, signalez-le sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

### **SEGNALAZIONE DI INCIDENTI NEGLI STATI MEMBRI UE**

Si prega di segnalare immediatamente al produttore e alle autorità competenti del proprio paese eventuali incidenti gravi avvenuti in relazione all'uso di questo dispositivo.

### **NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES EN LOS ESTADOS MIEMBROS DE LA UE**




Si se ha producido algún incidente grave en relación con este dispositivo, informe inmediatamente al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.


### **NOTIFICAÇÃO DE INCIDENTES EM ESTADOS-MEMBROS DA UE**

Se algum incidente sério ocorrer associado a este dispositivo, notifique sem demora o fato ao fabricante e à autoridade competente de seu Estado-Membro.

## APPENDIX V

### SYMBOLS/ SYMBOLE / SYMBOLES / SIMBOLI / SIMBOLOS

Symbol	Explanation
	Use By Verwendbar bis Utiliser jusqu'au Utilizzare entro Fecha de caducidad Data de expiração
<b>REF</b>	Catalogue number Bestellnummer Code Codice Código Código
<b>LOT</b>	Batch code Chargenbezeichnung Code du lot Codice del lotto Código de lote Código lote
	Contains sufficient for <n> tests Ausreichend für <n> Ansätze Contenu suffisant pour <n> tests Contenuto sufficiente per <n> saggi Contenido suficiente para <n> ensayos Contenudo suficiente para <n> tests
<b>IVD</b>	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device <i>In Vitro</i> Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consult Instructions for Use Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Leia cuidadosamente as instruções

Symbol	Explanation
	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura Limite de temperatura
<b>TC</b>	Test Cassette Testkassette Cassette test Cartuccia di rilevazione Cartucho de prueba Cassete de teste
<b>BUF CHASE</b>	Chase Buffer Laufpuffer Tampon de dilution Tampone di diluzione Tampón de incubación Tampão de diluição
<b>CONTROL L</b>	Control Low Kontrolle Tief Contrôle Bas Controllo Basso Control Bajo Controle Baixo
<b>CONTROL H</b>	Control High Kontrolle Hoch Contrôle Élevé Controllo Alto Control Alto Controle Alto
<b>RCC</b>	RFID Chip Card RFID Chipkarte Carte à puce RFID Carta chip RFID Tarjeta chip RFID Cartão Chip RFID
<b>BCC</b>	Barcode Card Barcodekarte Carte à code-barres Scheda con codice a barre Tarjeta con código de barras Cartão de código de barras

