

# Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.  
Plesmanlaan 125  
1066 CX Amsterdam  
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599  
Fax: +31 20 5123570  
Reagents@sanquin.nl  
www.sanquin.org/biologics

**MabTrack level infliximab**

REF M2920

IVD CE

96

308\_v08 06/2023 (de)

Ausschließlich für berufliche  
Zwecke

## ELISA zur quantitativen Messung der Wirkstoffspiegel von Infliximab

Ab	BUF	CAL	CONJ	HRP
Antikörper gegen	Puffer	Kalibrator	Konjugat	HRP

HUM	IFX	MOU	REK	TNF
human	Infliximab	Maus	rekombinant	TNF

WELL	≥ - ≤
Well	Bereich

## Verwendungszweck

MabTrack Level infliximab ist ein ELISA-Test (Enzyme Linked Immunoassay) zur schnellen, reproduzierbaren und spezifischen quantitativen Bestimmung aller den Wirkstoff infliximab enthaltenden Arzneimittel in humanen Plasma- und Serumproben.

## Allgemeine Informationen

Der therapeutische chimäre Antikörper Infliximab ist gegen den Tumornekrosefaktor alpha (TNF) gerichtet und wird häufig bei Patienten angewandt, die an rheumatoider Arthritis, Darmerkrankungen, Hauterkrankungen und Krebs leiden. Der TNF spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungen; er kann zum Beispiel Schmerzen, geschwollene Gelenke und Steifigkeit bei Patienten mit rheumatoider Arthritis verursachen. Es wird daher angenommen, dass die Hemmung des TNF einige dieser Symptome lindert und so die Lebensqualität der Patienten verbessert. Die Plasma- und Serumspiegel von TNF-Blockern unterscheiden sich zwischen den Patienten in hohem Maße und korrelieren eindeutig mit den klinischen Symptomen der Patienten. Bei etwa 8-43% der mit Infliximab behandelten Patienten werden gegen Infliximab gerichtete Antikörper gebildet. Dies kann die Funktion des TNF-Blockers teilweise behindern und kann einen Abfall des Plasmaspiegels des TNF-Blockers zur Folge haben. Die Ermittlung der Wirkstoffspiegel kann für die Anpassung der Behandlungsregime auf den jeweiligen Patienten wichtig sein, da niedrige Wirkstoffspiegel häufig ein Hinweis auf eine Antikörperbildung gegen Infliximab sind. Außerdem können niedrige Wirkstoffspiegel ein Zeichen für die Unwirksamkeit von Infliximab vor dem Rebound der klinischen Symptome sein. Andererseits wurde vorgeschlagen, dass bei Patienten, die gut auf Infliximab ansprechen, die Dosierung von Infliximab je nach den Serumspiegeln reduziert werden kann. Tests der Wirkstoffspiegel können daher helfen, die Patientenmedikation anzupassen oder auf einen alternativen TNF-Blocker umzustellen. Dieser ELISA für den Test des Infliximab-Spiegels wurde zur schnellen, reproduzierbaren und spezifischen quantitativen Bestimmung der Konzentrationen von Infliximab im Plasma und Serum entwickelt.

Klinisch optimale Bereiche, z. B. therapeutische Schwellenwerte, wurden von den Sanquin Diagnostic Services mit dem Infliximab ELISA bestimmt. Sie betragen für die rheumatoide Arthritis minimal 3,0 µg/mL (Van de Bemt *et al.* 2013). Für die entzündliche Darmerkrankung beträgt der optimale Bereich 3-7 µg/mL (Vande Castele *et al.*).

Das Mabtrack level infliximab kit ist mit dem internationalen WHO-Standard kalibriert, der vom National Institute for Biological Standards and Control (#16/170) erhältlich ist.

## Testprinzip

Der MabTrack level infliximab ELISA ist ein Enzymimmunoassay vom „Sandwich“-Typ. In den Mikrotiterplatten wird der TNF durch monoklonale Antikörper gebunden, mit denen die Mikrotiter-Wells aus Polystyrol beschichtet sind. Das Infliximab (in der Patientenprobe, dem Kalibrator oder den Kontrollen vorhanden) bindet an den TNF auf der Mikrotiterplatte. Nicht-gebundenes Material wird dann durch Waschung entfernt. Danach wird ein mit HRP (Meerretticherperoxidase) markierter, monoklonaler, gegen den Wirkstoff gerichteter Antikörper hinzugegeben. Dieser Antikörper bindet an den Infliximab/TNF/Anti-TNF-Komplex, der im Mikrotiter-Well vorliegt. Nach Entfernung des ungebundenen HRP-Konjugats durch Waschung wird in die Wells Substratlösung hinzugefügt. Es bildet sich ein farbiges Produkt, dessen Färbung im Verhältnis zu der Menge an Infliximab steht, die in der Probe, im Kalibrator bzw. in den Kontrollen vorhanden ist. Nach der Beendigung der Reaktion durch Zugabe einer Stopplösung wird in einem Mikrotiterplatten-Reader die Extinktion gemessen. Aus der Extinktion der Proben und der Kalibratorkurve kann durch Interpolation entlang der Kalibratorkurve die Konzentration an Infliximab bestimmt werden.

## Inhalt der Packung

Mouse-anti-TNF/recombinant TNF pre-coated microtiter plate	12 x 8 Wells	-	<b>REF</b> M2911	gebrauchsfertig
Calibrator 1-6	6 x 1 mL	schwarze Kappen	<b>REF</b> M2922	gebrauchsfertig
Control 1	1 x 1 mL	durchsichtige Kappe	<b>REF</b> M2923	gebrauchsfertig; therapeutischer Bereich
Control 2	1 x 1 mL	durchsichtige Kappe	<b>REF</b> M2924	gebrauchsfertig; therapeutischer Bereich
Human Anti-Infliximab HRP-conjugate	1 x 12,5 mL	braune Flasche	<b>REF</b> M2925	gebrauchsfertig
Wash buffer stock solution	1 x 50 mL	weiße Flasche	<b>REF</b> M1805	1:20 in destilliertem Wasser verdünnen
HPE dilution buffer	1 x 50 mL	weiße Flasche	<b>REF</b> M2940	gebrauchsfertig
TMB substrate solution	1 x 12,5 mL	braune Flasche	<b>REF</b> M1821	gebrauchsfertig
Stop solution 0,18 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1 x 13,0 mL	weiße Flasche	<b>REF</b> M1823	gebrauchsfertig
Plate seals	10 x	-	-	-

- Die Flachboden-Mikrotiterplatte besteht aus 12 Streifen mit 8 gebrauchsfertigen Wells. Sämtliche Wells sind mit TNF-spezifischem monoklonalem Maus-Antikörper und rekombinantem TNF beschichtet. Die Mikrotiterplatte befindet sich vakuumversiegelt in einem Kunststoffbeutel, der Trockenmittel enthält. Das Kit bietet die Flexibilität, die Mikrotiterplatte bei verschiedenen Gelegenheiten zu verwenden. Es wird die Anzahl der Streifen, die zum Test der gewünschten Anzahl an Proben erforderlich sind, plus 8 Wells bestimmt, die für die Kalibratoren und Kontrollen benötigt werden. Die nicht benötigten Streifen werden vom Rahmen der Mikrotiterplatte entfernt und wieder im Kunststoffbeutel mit dem Trockenmittel verpackt.
- Nach dem Öffnen können alle Reagenzien und die Mikrotiterplattenstreifen  $\leq 6$  Wochen lang verwendet werden, wenn sie bei 2-8 °C gelagert werden.
- Die für das Kit geltenden genauen Infliximab-Konzentrationen in den Kalibratoren 1-6 und in der Kontrolle 1 und Kontrolle 2 können der beiliegenden Packungsbeilage entnommen werden.

## Zusätzliche Materialien und/oder Ausrüstung

- Destilliertes oder de-ionisiertes Wasser.
- Kalibrierte Pipetten (5-1000  $\mu$ L).
- Mehrkanalpipette (30-300  $\mu$ L).
- Bechergläser, Kolben, Zylinder und Flüssigkeitsbehältnisse, die zur Vorbereitung der Reagenzien nötig sind.
- Mikrotiterplatten-Reader (zum Messen der OD bei 450 nm).

## Vorsichtsmaßnahmen

Nur zum Gebrauch für die in vitro Diagnostik. Reagenzien sollten bei 2–8°C aufbewahrt werden. Undichte oder beschädigte Fläschchen dürfen nicht verwendet werden. Reagenzien (sei es ungeöffnet oder geöffnet) sollten nur bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Reagenzien infektiöse Erreger enthalten.

Nach Gebrauch Hände gründlich waschen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.

Bei der Verwendung und Entsorgung der Behälter und deren Inhalt sind entsprechende Vorsichtsmaßnahmen zu beachten. Nach Abschluss des Tests sollte der Abfall entsprechend den örtlichen Regelungen entsorgt werden.

Verursacht schwere Augenreizung. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Verschüttetes Produkt aufsaugen, um Materialschäden zu verhindern.

## Testverfahren

### Probenentnahme und -vorbereitung

1. Für die Messung der Infliximab-Konzentration müssen die Proben während der Talspiegel entnommen werden. Daher müssen die Proben innerhalb von 24 Stunden VOR der Injektion des Wirkstoffes entnommen werden, um sicherzustellen, dass die angegebenen erwarteten Spiegel den Talspiegel des Patienten wiedergeben.
2. Im Assay dürfen nur Serum und EDTA Plasma verwendet werden.
3. Das Plasma bzw. Serum ist von den Blutzellen innerhalb von 4 Stunden nach der Entnahme zu trennen und die Analysen sind unverzüglich durchzuführen. Wenn sich die Testung der Proben verzögert, können sie 72 Stunden lang bei 2-8 °C aufbewahrt werden. Wenn die Proben nicht innerhalb von 72 Stunden analysiert werden, müssen die Proben gefroren aufbewahrt werden; sie können 12 Monate lang bei  $\leq -18$  °C gelagert werden.
4. Proben aliquotieren, um Gefrier-Auftau-Zyklen zu vermeiden.
5. Vor dem Assay müssen gefrorene Proben bei Zimmertemperatur aufgetaut werden. Zum Auftauen kein Wasserbad mit 37 °C oder 56 °C verwenden.
6. Die Proben kurz vor der Vorbereitung der Verdünnungen mischen.

### Verdünnung der Proben

1. Einfachbestimmungen von Patientenproben sind erlaubt, wenn die Messungen mit validierten Protokollen in automatisierten ELISA-Systemen erfolgen. Bei manuell durchgeführten Tests sollten für jede Probe Doppelbestimmungen vorgenommen werden.
2. In diesem Assay kann eine Verdünnung von 1:1500 verwendet werden, um die Infliximab-Spiegel bei Patienten zu messen.
3. Wenn die Konzentration der Probe zu hoch ist, um eine genaue Konzentration erlangen zu können, ist der Test zur Erzielung eines verlässlichen Ergebnisses mit einer Probenverdünnung von 1:2000 zu wiederholen.
4. Wenn die Konzentration der Probe zu niedrig ist, um eine genaue Konzentration erlangen zu können, ist der Test zur Erzielung eines verlässlichen Ergebnisses mit einer Probenverdünnung von 1:200 zu wiederholen.

Verdünnung	Art der Probe	HPE-Menge
1:50	5 $\mu\text{L}$ unverdünnte Patientenprobe	245 $\mu\text{L}$
1:200	50 $\mu\text{L}$ 1:50 vorverdünnte Patientenprobe	150 $\mu\text{L}$
1:1500	10 $\mu\text{L}$ 1:50 vorverdünnte Patientenprobe	290 $\mu\text{L}$
1:2000	5 $\mu\text{L}$ 1:50 vorverdünnte Patientenprobe	195 $\mu\text{L}$

### Vorbereitung der Arbeitslösung des Waschpuffers mit der gewünschten Stärke

Die Arbeitslösung mit der gewünschten Stärke ist durch Zugabe von 50 mL der Stammlösung des Waschpuffers (das ist die Gesamtmenge einer Flasche) auf 950 mL destilliertes Wasser vorzubereiten. Die Arbeitslösung mit der gewünschten Stärke kann bis zu 2 Monate lang bei 2-8 °C gelagert werden.

### Vorbereitung für das ELISA-Testverfahren

1. Alle Reagenzien müssen Zimmertemperatur (18-25 °C) erreichen.
2. Der Assay muss vollständig bei Zimmertemperatur (18-25 °C) ohne Schütteln durchgeführt werden.
3. Die Wells dürfen zwischen den Inkubationsschritten nicht für längere Zeit ohne Abdeckung oder trocken stehen.
4. Vor der Inkubation sind aus den Wells alle Luftblasen sorgfältig zu entfernen.
5. Um eine Kreuzkontamination zu vermeiden, sind für jeden Transfer Einmal-Pipettenspitzen zu verwenden, außerdem ist für jeden Inkubations-/Fixationsschritt des ELISA-Experiments eine neue Abdeckung der Platten mit Adhäsionsverschluss zu benutzen.
6. Alle Reagenzien sind vor der Verwendung gründlich aber behutsam zu mischen (ohne Schaumbildung).

### Durchführung des ELISA-Testverfahrens

1. Die Mikrotiterplatte mit der erforderlichen Anzahl an Mikrotiterplattenstreifen aus dem Beutel entnehmen. Die nicht verwendeten Streifen können im Kunststoffbeutel mit dem Trockenmittel aufbewahrt werden.
2. Den Waschpuffer und die Proben gemäß dem Protokoll vorbereiten.
3. Zugabe von 100  $\mu\text{L}$  pro Well der Kalibratoren, Kontrollen oder verdünnten Patientenproben gemäß dem vorgeschlagenen Mikrotiterplatten-Layout oder dem laboreigenen Layout. Schließen Sie die Fläschchen der Kalibratoren und Kontrollen nach Gebrauch, um eine Verdunstung zu verhindern.
4. Die Mikrotiterplatte mit Adhäsionsverschluss zudecken und 1 Stunde lang inkubieren.
5. Überstand aus den Wells abpipettieren und jedes Well mit 250  $\mu\text{L}$  verdünntem Waschpuffer füllen. Den Waschpuffer 30 bis 60 Sekunden pro Waschzyklus in jedem Well belassen, dann die Wells entleeren. Nach der Waschung (manuelle und automatisierte Waschung) die gesamte Flüssigkeit gründlich von der Mikrotiterplatte entfernen, indem sie mit den Öffnungen nach unten auf Saugpapier ausgeklopft wird, um den gesamten restlichen Waschpuffer zu entfernen. Diesen Schritt viermal wiederholen. Nach der letzten Waschung müssen die Wells trocken sein!
6. Zugabe von 100  $\mu\text{L}$  Anti-Infliximab/HRP-Konjugat zu jedem Well.
7. Die Mikrotiterplatte mit Adhäsionsverschluss zudecken und 1 Stunde lang inkubieren.
8. Überstand aus den Wells abpipettieren und jedes Well mit 250  $\mu\text{L}$  verdünntem Waschpuffer füllen. Den Waschpuffer 30 bis 60 Sekunden pro Waschzyklus in jedem Well belassen, dann die Wells entleeren. Nach der Waschung (manuelle und automatisierte Waschung) die gesamte Flüssigkeit gründlich von der Mikrotiterplatte entfernen, indem sie mit den Öffnungen nach unten auf Saugpapier ausgeklopft wird, um den gesamten restlichen Waschpuffer zu entfernen. Diesen Schritt viermal wiederholen. Nach der letzten Waschung müssen die Wells trocken sein!
9. Zugabe von 100  $\mu\text{L}$  TMB-Substratlösung zu jedem Well.
10. Die Mikrotiterplatte im Dunkeln inkubieren. Nicht schütteln. Die Farbbildung alle 5 Minuten prüfen. Wenn sich in den positiven Wells die blaue Farbe entwickelt hat und die Leerprobe noch farblos ist, muss die Reaktion gestoppt werden. Die durchschnittliche Inkubationszeit beträgt  $10 \pm 1$  Minuten.
11. Die Reaktion durch Zugabe von 100  $\mu\text{L}$  Stopplösung pro Well stoppen.
12. Die Mikrotiterplatte in einem ELISA-Reader bei OD450 nm messen. Die Messung der Platte muss innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden. Es ist zulässig, eine zweite Referenzwellenlänge von 540–620 nm während der Messung zu verwenden.

### Vorgeschlagenes Mikrotiterplatten-Layout

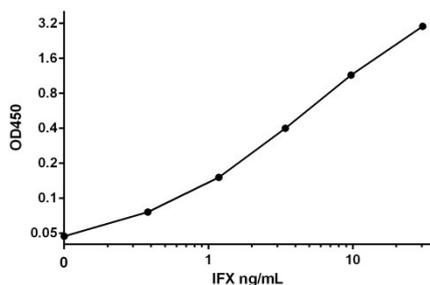
Die Kalibrationskurve und die Kontrollen müssen bei jedem quantitativen Analysedurchlauf enthalten sein, sie können in einer einzigen Reihe ausgeführt werden. Die mitgelieferten Reagenzien ermöglichen es dem Anwender, die Mikrotiterplatte in einem bis maximal vier Durchgänge zu verwenden. Nachfolgend ist ein Mikrotiterplatten-Layout für die Verwendung in einem einzelnen Durchgang aufgeführt.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	CAL1	Probe 1 VERDÜ. 1	Probe 5 VERDÜ. 1	Probe 9 VERDÜ. 1	Probe 13 VERDÜ. 1	Probe 17 VERDÜ. 1	Probe 21 VERDÜ. 1	Probe 25 VERDÜ. 1	Probe 29 VERDÜ. 1	Probe 33 VERDÜ. 1	Probe 37 VERDÜ. 1	Probe 41 VERDÜ. 1
B	CAL2	Probe 1 VERDÜ. 1	Probe 5 VERDÜ. 1	Probe 9 VERDÜ. 1	Probe 13 VERDÜ. 1	Probe 17 VERDÜ. 1	Probe 21 VERDÜ. 1	Probe 25 VERDÜ. 1	Probe 29 VERDÜ. 1	Probe 33 VERDÜ. 1	Probe 37 VERDÜ. 1	Probe 41 VERDÜ. 1
C	CAL3	Probe 2 VERDÜ. 1	Probe 6 VERDÜ. 1	Probe 10 VERDÜ. 1	Probe 14 VERDÜ. 1	Probe 18 VERDÜ. 1	Probe 22 VERDÜ. 1	Probe 26 VERDÜ. 1	Probe 30 VERDÜ. 1	Probe 34 VERDÜ. 1	Probe 38 VERDÜ. 1	Probe 42 VERDÜ. 1
D	CAL4	Probe 2 VERDÜ. 1	Probe 6 VERDÜ. 1	Probe 10 VERDÜ. 1	Probe 14 VERDÜ. 1	Probe 18 VERDÜ. 1	Probe 22 VERDÜ. 1	Probe 26 VERDÜ. 1	Probe 30 VERDÜ. 1	Probe 34 VERDÜ. 1	Probe 38 VERDÜ. 1	Probe 42 VERDÜ. 1
E	CAL5	Probe 3 VERDÜ. 1	Probe 7 VERDÜ. 1	Probe 11 VERDÜ. 1	Probe 15 VERDÜ. 1	Probe 19 VERDÜ. 1	Probe 23 VERDÜ. 1	Probe 27 VERDÜ. 1	Probe 31 VERDÜ. 1	Probe 35 VERDÜ. 1	Probe 39 VERDÜ. 1	Probe 43 VERDÜ. 1
F	CAL6 = blank	Probe 3 VERDÜ. 1	Probe 7 VERDÜ. 1	Probe 11 VERDÜ. 1	Probe 15 VERDÜ. 1	Probe 19 VERDÜ. 1	Probe 23 VERDÜ. 1	Probe 27 VERDÜ. 1	Probe 31 VERDÜ. 1	Probe 35 VERDÜ. 1	Probe 39 VERDÜ. 1	Probe 43 VERDÜ. 1
G	CTRL 1	Probe 4 VERDÜ. 1	Probe 8 VERDÜ. 1	Probe 12 VERDÜ. 1	Probe 16 VERDÜ. 1	Probe 20 VERDÜ. 1	Probe 24 VERDÜ. 1	Probe 28 VERDÜ. 1	Probe 32 VERDÜ. 1	Probe 36 VERDÜ. 1	Probe 40 VERDÜ. 1	Probe 44 VERDÜ. 1
H	CTRL 2	Probe 4 VERDÜ. 1	Probe 8 VERDÜ. 1	Probe 12 VERDÜ. 1	Probe 16 VERDÜ. 1	Probe 20 VERDÜ. 1	Probe 24 VERDÜ. 1	Probe 28 VERDÜ. 1	Probe 32 VERDÜ. 1	Probe 36 VERDÜ. 1	Probe 40 VERDÜ. 1	Probe 44 VERDÜ. 1

### Ergebnisse

- Zur Berechnung der Konzentrationen kann jedes laboreigene oder online verfügbare Softwareverfahren verwendet werden. Zur Kurvenanpassung ist eine nicht-lineare Regressionsanalyse zu verwenden. Eine logistische Regressionsanalyse mit vier Parametern (4PL) wird empfohlen, aber eine logistische Regression mit 5 Parametern (5PL) oder eine Kurvenanpassung mit einem Polynom dritten Grades kann ebenfalls verwendet werden. Eine allgemeine Methode für die Berechnung von Hand ist aufgeführt.
- Protokollieren der Extinktion bei OD450 nm für jedes Well mit Kalibrator.
- Die Extinktion wird auf der y-Achse mit einer linearen Skala aufgetragen, die Infliximab-Konzentration der Kalibratorprobe wird auf der x-Achse mit einer log-Skala aufgetragen. Es wird die am besten angepasste Kurve eingezeichnet.
- Protokollieren der Extinktion bei OD450 nm für jedes Well mit einer gegebenen Probe.
- Aufsuchen des Mittelwertes der Nettoextinktion für jede Probe auf der vertikalen Achse; durch Ziehen einer horizontalen Linie wird der Schnittpunkt mit der Kalibratorkurve bestimmt.
- Ziehen einer vertikalen Linie vom Schnittpunkt mit der Kalibratorkurve zur x-Achse.
- Beim Schnittpunkt mit der x-Achse wird auf der horizontalen Achse die Infliximab-Konzentration (x-Wert) abgelesen.
- Die abgelesene Infliximab-Konzentration wird mit dem Verdünnungsfaktor der Probe multipliziert. Dies ist die tatsächliche Konzentration von Infliximab in der Probe. Für Kontrolle 1 und Kontrolle 2 muss ein Verdünnungsfaktor von 1:1500 verwendet werden.
- Bei Doppelbestimmung der Probe ist der Mittelwert der zwei Werte zu berechnen.

Beispiel einer Standardkurve 10 Minuten nach Farbentwicklung:



### Auswertung

Die optimale therapeutische Konzentration von Infliximab hängt von der Erkrankung in Kombination mit den jeweiligen Patientenmerkmalen ab. Wenn der Konzentrationstest für diagnostische Zwecke und/oder zur Bestimmung des Behandlungsprotokolls des Patienten durchgeführt wird, kann die ermittelte Konzentration niemals eine eindeutige Diagnose liefern, sondern muss als ein Hinweis auf die klinische Situation betrachtet werden, die möglicherweise eine weitere diagnostische Untersuchung erfordert. Für die Entscheidungsfindung müssen neben der Infliximab-Konzentration auch die klinischen Parameter herangezogen werden. Im Verlauf der Entscheidungsfindung müssen darüber hinaus bei Patienten mit niedriger Infliximab-Konzentration die gegen Infliximabgerichteten Antikörper gemessen und zusammen mit den Ergebnissen des Immunogenitätstests und den klinischen Parametern betrachtet werden.

#### Angabe der therapeutischen Konzentrationen für mit Infliximab behandelte Patienten\*

Gesunde Spender und nicht mit Infliximab behandelte Patienten	negativ
Subtherapeutische Infliximab-Spiegel	< 3,0 µg/mL
Normale therapeutische Infliximab-Spiegel	3,0-7,0 µg/mL**
Erhöhte Infliximab-Spiegel	> 7,0 µg/mL

\*Es werden nur Hinweise für die therapeutischen Werte gegeben; jedes Labor muss für die diagnostischen Zwecke seine eigenen Grenzwerte definieren.

\*\*Der normale therapeutische Spiegel ist der Konzentrationswert, bei dem ein Patient eine höhere Wahrscheinlichkeit auf ein gutes bis mittelgradiges klinisches Ansprechen hat. Der normale therapeutische Spiegel ist nicht notwendigerweise gleich mit dem optimalen therapeutischen Spiegel. Der optimale therapeutische Spiegel steht im Zusammenhang mit der Erkrankung und den jeweiligen Parametern des Patienten.

### Spezifikationen

Die für bestimmte Leistungsmerkmale des Tests angegebenen Werte stellen typische Ergebnisse dar und dürfen nicht als Spezifikationen für dieses Kit angesehen werden. Der genaue Assaybereich des Kits und die Infliximab-Konzentrationen in den Kalibratoren können der beiliegenden Packungsbeilage entnommen werden.

Wiederfindungsrate	: 94% bei 2 µg/mL (1:1500)
Bestimmungsgrenze	
untere	: 0,08 µg/mL (1:200)
obere (Antigenüberschuss)	: kein Antigenzugang beobachtet (47 µg/mL bei 1:2000)
Präzision	Gesamtpräzision                      Interassay-Präzision
0,30 µg/mL (1:200)	: 11,0%                                      9,5%
2,14 µg/mL (1:1500)	: 8,8%                                        5,8%
17,3 µg/mL (1:2000)	: 7,4%                                        6,5%
Linearer Bereich	: 0.22-39.7 µg/mL
Keine Kreuzreaktivität mit	: TNF-Blocker Adalimumab, Etanercept und Golimumab
Störfaktoren	: Störung < 20% bei:
	Hämoglobin                      - 5 und 40 mg/mL
	konjugiertes Bilirubin        - 0,02 und 0,5 mg/mL
	unkonjugiertes Bilirubin      - 0,1 und 1,5 mg/mL
	Triglyceride                     - 15 und 50 mg/mL
	humanes Serumalbumin        - 60 und 80 mg/mL
	Rheumafaktor (RA)            - 1600 U/mL
Methodenvergleich	
Assay	: Es wurden 70 Patientenproben mit der hauseigenen validierten Methode von Sanquin Diagnostic Services verglichen.
Analyse	: Passing and Bablock: $y = 0,91x + 0,04$ Spearman correlation: 0,99

### Einschränkungen

- Das Kit wurde nur für den professionellen Gebrauch entwickelt, der Anwender muss für ELISA-Testverfahren geschult und mit diesen vertraut sein.
- Für optimale Ergebnisse des ELISA sorgen Sie dafür, dass alle Pipetten und Systeme überprüft werden und eine Full-Service-Wartung entsprechend den beschriebenen Verfahren der Hersteller erfolgt.
- Nur ein manueller Test mit diesem Kit, wie es in dieser Gebrauchsanleitung beschrieben ist, wurde durch Sanquin validiert. Alle Aussagen in dieser Gebrauchsanleitung wurden beim manuellen Testverfahren validiert. Bei Verwendung des Kits in einem ELISA-Automaten muss der Test vor seiner Verwendung durch den Anwender validiert werden. Die Aussagen in dieser Gebrauchsinformation gelten nicht für die Verwendung dieses Kits in einer ELISA-Maschine.
- Das beschriebene Protokoll gilt für manuelle Tests. Bei Verwendung des Kits in einem ELISA-Automaten muss der Test vor seiner Verwendung durch den Anwender validiert werden.
- Wenn die Kontrollen nicht im angegebenen Bereich liegen, sind die Ergebnisse nicht gültig und der Test muss wiederholt werden.
- Da die Kontrollen vorverdünnt werden, können sie nicht verwendet werden, um die Proben- und Reagenzienvorbereitung durch den Anwender zu überprüfen.
- Proben, deren OD450 nm außerhalb der Kalibratorkurve liegt, sind nicht gültig und können für Berechnungen nicht verwendet werden; die Extrapolation der Ergebnisse ist nicht zulässig. Diese Proben müssen mit niedrigeren oder höheren Verdünnungen gemessen werden.
- Falsch-positive oder -negative Ergebnisse können erhalten werden, wenn die Proben mit höheren als in den Spezifikationen angegebenen Störfaktoren verwendet werden.
- Es dürfen nur die Platten, das HRP-Konjugat, die Kalibratoren und die Kontrollen verwendet werden, die mit dem Kit mitgeliefert werden. Verwenden Sie diese Komponenten nicht aus unterschiedlichen Chargen, da sie nicht gegenseitig austauschbar sind. Der HPE-Probenpuffer, TMB, Stopp- und Waschpuffer können jedoch aus anderen MabTrack-Kits verwendet werden, vorausgesetzt, die Haltbarkeitsdauer der Komponenten ist noch gültig und die Komponenten wurden im verschlossenen Behältnis bei 2–8 °C gelagert und nicht länger als 6 Monate zuvor geöffnet. Diese Komponenten können vor der Durchführung des ELISA gemischt werden, z. B., um Probleme im Zusammenhang mit dem Totvolumen zu beheben. Die Chargennummer und Angaben zur Haltbarkeit befinden sich auf dem Etikett der einzelnen Komponenten.
- Reagenzien oder Überstände von Reagenzien (z. B. Totvolumen) dürfen nicht mit den Inhaltsstoffen von frisch geöffneten Fläschchen gemischt werden.
- Die Kappen und Fläschchen sind nicht austauschbar, die Kappen müssen wieder auf die zugehörigen Fläschchen aufgesetzt werden.
- Die Zugabe von NaN<sub>3</sub> zu den Reagenzien ist nicht gestattet, dies beeinträchtigt die Leistung des Tests.
- Während der Inkubationsschritte keine Aluminiumfolie verwenden.
- Der konzentrierte Puffer kann Salzkristalle aufweisen. Vor der Herstellung des Puffers mit Arbeitskonzentration sollte der konzentrierte Puffer daher KURZ auf 37 °C erwärmt werden, um die Kristalle aufzulösen.

### Literatur

1. van den Bemt B.J.F.; Annals of the Rheumatic Diseases. 2008;67:1697-1701.
2. Aarden L.; Current Opinion in Immunology. 2008;20(4):431-435.
3. de Vries M.K.; Annals of the Rheumatic Diseases. 2007;66(9):1252-1254.
4. Wolbink G.J.; Arthritis & Rheumatology. 2006;54(3):711-715.
5. Van der Bemt B.J.F.; British Journal of Clinical Pharmacology. 2013;76(6):939-945.
6. Vande Casteele N.; Gastroenterology. 2015;148:1320-1329.

**Für eine Liste weiterer Veröffentlichungen von Sanquin zu inflixmab siehe [www.sanquin.org/biologics](http://www.sanquin.org/biologics).**

*Sanquin garantiert, dass die Funktionsweise seiner Produkte der Beschreibung in der Originalgebrauchsanweisung des Herstellers entspricht. Die strikte Einhaltung der Verfahren und Testanordnungen sowie die Verwendung der empfohlenen Reagenzien und Gerätschaften ist unerlässlich. Falls der Anwender von diesen Maßgaben abweicht, lehnt Sanquin jegliche Verantwortung ab.*