

RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies

REF G09042



1. Zweckbestimmung

Für die *In-vitro*-Diagnostik. RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies ist ein Enzym-Immunoassay zum quantitativen Nachweis von Antikörpern gegen Infliximab (ATI) in humanem Serum und Plasma.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Therapeutisches Medikamenten-Monitoring

Infliximab (IFX) ist ein chimärer Antikörper, der gegen das pro-inflammatorische Zytokin TNF α gerichtet ist. Die Einführung von Infliximab hat die Behandlung von chronisch-inflammatorischen Erkrankungen wie z. B. chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED), rheumatoider Arthritis (RA) und Spondyloarthritis revolutioniert. Es wurde nachgewiesen, dass Infliximab lang anhaltende Remissionen auslösen kann und die Lebensqualität von Patienten verbessert. ^[1] Bei einigen Patienten jedoch wirkt die IFX-Therapie nicht (primäre Nonresponder), bei anderen verliert sie im Laufe der Zeit ihre Wirksamkeit (sekundäre Nonresponder). ^[2]

Immunogenität

Sekundärer Wirksamkeitsverlust entsteht häufig aufgrund von Anti-Medikamenten-Antikörpern (ATI), aufgrund des immunogenen Charakters des Medikamentes. ^[3,4] ATI können in jedem Patienten entstehen, der eine Infliximab-Therapie erhält. Sie neutralisieren in erster Linie die Aktivität von Infliximab durch die Bildung eines Immunokomplexes. Außerdem werden diese Immunokomplexe sehr schnell aus dem System entfernt. Analytisch betrachtet sind sie verantwortlich für Infliximab-Konzentrationen, die unterhalb des therapeutisch erforderlichen Wertes liegen. Im Falle von sehr niedrigen Talspiegelkonzentrationen von Infliximab (< 1 $\mu\text{g/ml}$), kann eine anschließende Messung von ATI hilfreich sein, um die optimale Behandlung zu bestimmen.

Diagnostischer Wert

Der diagnostische Nutzen von RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies liegt in der Möglichkeit, Patienten mit Infliximab-Konzentrationen, die unterhalb der therapeutisch erforderlichen Konzentration liegen (< 1 $\mu\text{g/ml}$) in zwei Gruppen zu klassifizieren: Solche, die eine Dosiserhöhung brauchen und solche, die mit einem anderen Medikament behandelt werden sollten. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass Patienten mit niedrigen IFX Konzentrationen (< 1 $\mu\text{g/ml}$) und keinen bzw. niedrigen ATI Titern von einer Dosiserhöhung von Infliximab profitieren können. ^[5, 6] Es ist wichtig, dass die ATI Titer bei den Patienten, bei welchen eine Dosiserhöhung vorgenommen wurde, engmaschig überwacht werden. Patienten mit hohen ATI Titer werden bevorzugt auf eine Medikamentenklasse umgestellt. Hierbei kann es sich um einen Wechsel in derselben oder einer anderen Medikamentenklasse handeln.

Hinweis: RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies kann ATI nicht in Gegenwart hoher Infliximab-Konzentrationen nachweisen. Es sollte nur angewendet werden, wenn Infliximab in den Proben mit RIDASCREEN® IFX Monitoring (G09041) quantifiziert wurde und der Wert bei < 1 µg/ml lag.

3. Testprinzip

Im RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies werde ein spezifische monoklonale Antikörper (MA-IFX10F9), welche an der Universität Leuven (KU Leuven, Belgien) isoliert und charakterisiert wurde, in einem Bridging-Verfahren eingesetzt.^[7] Dieser Antikörper bindet spezifisch an Infliximab.

An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte sind Infliximab Moleküle gebunden. Eine Verdünnung der zu untersuchenden Patientenprobe wird in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert und darin inkubiert. Während dieses Inkubationsschrittes bindet anti-IFX spezifisch an das Infliximab auf der Platte. Nach Entfernen der nicht gebundenen Serum-Proteine durch einen Waschschrift werden die Streifen mit Biotin-konjugiertem Infliximab inkubiert, die dann direkt an den Antigen-Antikörper-Komplex binden. Nach Entfernen des nicht gebundenen Biotin-Konjugates werden die Streifen mit Peroxidase-konjugiertem Steptavidin inkubiert. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die gemessene Extinktion ist proportional zu der in der Probe vorhandenen ATI-Konzentration.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen.

Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte; 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit Infliximab
Standard 1-6	1,3 ml	6 Standards; Konzentrationen der Standards 1 bis 6: 0 / 0,1 / 0,5 / 1 / 2,5 / 5 ng/ml anti-IFX MA-IFX10F9; enthält 0,09 % NaN ₃ ; gebrauchsfertig
Low Control +	1,3 ml	Niedrige Positivkontrolle für ATI; enthält 0,375 ng/ml anti-IFX MA-IFX10F9 und 0,09 % NaN ₃ ; gebrauchsfertig
Control +	1,3 ml	Positivkontrolle für ATI; enthält 3 ng/ml anti-IFX MA-IFX10F9 und 0,09 % NaN ₃ ; gebrauchsfertig
Diluent	100 ml	Probenverdünnungspuffer; enthält 0,09 % NaN ₃ ; gebrauchsfertig; orange gefärbt
Conjugate 1	12 ml	Konjugat 1; peroxidase-konjugiertes Infliximab; gebrauchsfertig; blau gefärbt
Conjugate 2	12 ml	Konjugat 2; peroxidase-konjugiertes Streptavidin; gebrauchsfertig; rot gefärbt
Substrate	12 ml	Substrat; Wasserstoffperoxid / Tetramethylbenzidin (TMB); gebrauchsfertig
Wash	50 ml	Waschpuffer (20-fach konz.); Detergenz in Phosphatpuffer-Lösung und antimikrobielle Agentien
Stop	6 ml	Stopp-Lösung; 0,5 M H ₂ SO ₄ ; gebrauchsfertig
4 Abdeckfolien		

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Detail siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Alle Reagenzien sind bei 2 - 8 °C zu lagern und bis zu dem auf dem jeweiligen Etikett aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Geöffnete Komponenten (Reagenzien, Mikrotiterstreifen) sollten bis zum nächsten Gebrauch bei 2 - 8 °C gelagert werden und können für 6 Monate aufbewahrt werden. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C für einen Monat haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Alu-Beutel, der die Mikrotiterstreifen enthält, ist so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind im verschlossenen Alu-Beutel sofort wieder bei 2 - 8 °C zu lagern. Eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat ist zu vermeiden, um einer Zersetzung

bzw. Blaufärbung durch Autooxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Blaufärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1. Reagenzien

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2. Zubehör

- Präzisionsmikropipetten und Standardlaborpipetten
- Messzylinder (1000 ml)
- Saubere Glas- oder Plastikröhrchen für die Verdünnung der Proben
- Stoppuhr
- Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette (300 µl)
- Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm / Referenzfilter 620 nm)
- Filterpapier (Labortücher)
- Abfallbehälter mit 0,5 %-igen Hypochloritlösung
- 37 °C Brutschrank

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *In-vitro*-Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Mischen Sie keine Reagenzien oder beschichtete Mikrotiterplatten von Kits mit verschiedenen Lotnummern.

Die im Kit befindlichen Kontrollseren (Standard 1-6, Niedrige Positivkontrolle, Positivkontrolle) wurden auf HIV- und HCV-Ak sowie Hbs-Ag untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten sie, ebenso wie die Patientenproben und alle Materialien, die mit ihnen in Berührung kommen, als potentiell infektiös behandelt und entsprechend den jeweiligen nationalen Sicherheitsbestimmungen gehandhabt werden.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmal-Handschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Das Stopp-Reagenz enthält 0,5 M Schwefelsäure. Hautkontakt sowie Kontakt mit Kleidung vermeiden! Bei Hautkontakt mit Wasser spülen.

Die Reagenzien enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Das Substrat enthält Wasserstoffperoxid.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

In diesem Assay können EDTA-Plasma-, Citrat-Plasma- sowie Serum-Proben verwendet werden. Nach der Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Überführen Sie die Proben in ein sauberes Röhrchen.

Proben können für 3 - 4 Tage bei 2 - 8 °C, oder bei -20 °C für mindestens ein Jahr gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden. Die Proben werden in Probenverdünnungspuffer verdünnt (siehe 9.3.1).

Verdünnte Proben können für mindestens 8 h bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte **Plate** unbedingt auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch sind die Mikrotiterstreifen (im verschlossenen Beutel) und die Reagenzien wieder bei 2 - 8 °C zu lagern. Einmal benutzte Mikrotiterstreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind. Ein direkter Kontakt von Proben mit den Kitkomponenten ist zum Ausschluss von Kreuzkontamination zu vermeiden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten bei den verschiedenen Inkubationsschritten abzudecken oder abzukleben. Direkte Sonneneinstrahlung ist zu vermeiden.

Um die Anleitungen zur Testdurchführung auf ELISA-Pipettierautomaten zu erhalten, wenden Sie sich bitte an die R-Biopharm AG oder den örtlichen Distributor.

9.2. Vorbereitung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrats **Wash** wird mit 19 Teilen destilliertem Wasser gemischt (1:20). Hierfür werden 50 ml des Konzentrats in einen 1000 ml Messzylinder gegeben und mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt. Die rekonstituierte Lösung kann für mindestens einen Monat bei 2 - 8 °C gelagert werden. Bei höheren Temperaturen kann die konzentrierte Waschlösung milchig-schlierig aussehen ohne, dass es die Qualität beeinträchtigt. Nach der Verdünnung ist die Lösung wieder klar.

9.3. Vorbereitung der Proben

Serumproben können bei 2 - 8 °C für 3 - 4 Tage, oder bei -20 °C für mindestens 1 Jahr gelagert werden (siehe auch Absatz 8). Wiederholtes Einfrieren und Auftauen sollte vermieden werden. Proben müssen im Probenverdünnungspuffer verdünnt werden (siehe 9.3.1.).

Verdünnte Proben können für mindestens 8 Stunden bei RT gelagert werden.

9.3.1. Verdünnung der Proben

Verdünnen Sie jede Probe 1:25 und 1:200.

a) 1:25 Verdünnung

Mit 1:25 Verdünnungen können ATI-Konzentrationen zwischen 2,5 und 125 ng/ml bestimmt werden.

Beispiel: pipettieren von 25 µl Patientenprobe in 600 µl Probenverdünnungspuffer **Diluent**.

Wenn die Konzentration kleiner als 2,5 ng/ml ist, dürfen die Ergebnisse nicht extrapoliert werden und werden mit < 2,5 ng/ml angegeben.

Wenn die Konzentration höher als 125 ng/ml ist, dürfen die Ergebnisse nicht extrapoliert werden, und werden mit > 125 ng/ml angegeben.

b) 1:200 Verdünnung

Mit 1:200 Verdünnungen können ATI-Konzentrationen zwischen 20 und 1000 ng/ml bestimmt werden.

Beispiel: pipettieren von 100 µl der 1:25-Verdünnung in 700 µl Probenverdünnungspuffer **Diluent**.

Wenn die Konzentration kleiner als 20 ng/ml ist, dürfen die Ergebnisse nicht extrapoliert werden und werden mit < 20 ng/ml angegeben.

Wenn die Konzentration höher als 1000 ng/ml ist, dürfen die Ergebnisse nicht extrapoliert werden, und werden mit > 1000 ng/ml angegeben.

Wenn die 1:25 und die 1:200 Verdünnung eine messbare Konzentration ergeben wird der Mittelwert beider Werte berechnet und ausgegeben

9.4. Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen erfolgt die Zugabe von 100 µl der Standards 1 - 6 **Standard | 1** – **Standard | 6**, der Positivkontrolle **Control | +**, der niedrigen Positivkontrolle **Low Control | +** sowie der endverdünnten Proben. Obwohl empfohlen wird, die Standards, Kontrollen und Proben in Doppelbestimmungen zu pipettieren, werden auch zuverlässige Ergebnisse mit Einfachbestimmungen erzielt. Anschließend wird die Platte abgedeckt und für 60 Minuten bei 37 °C inkubiert.

9.5. Erster Waschschritt

Sorgfältiges Waschen ist wichtig zum Erzielen korrekter Ergebnisse und sollte daher strikt nach Anleitung erfolgen. Das Inkubat in den Kavitäten sollte zunächst in einen Abfallbehälter mit Hypochlorit-Lösung zwecks Desinfektion entleert werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um Restfeuchte zu entfernen. Anschließend wird 5-mal mit jeweils 300 µl verdünntem Waschpuffer (siehe 9.2.) gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen. Bei der Verwendung eines Waschautomaten ist auf die korrekte Einstellung des Gerätes auf den verwendeten Mikrotiter-Plattentyp zu achten. Bei den Waschschritten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden. Nach dem letzten Waschschritt sollte die Platte gründlich auf saugfähigem, sauberem Papier oder Labortüchern ausgeschlagen werden, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen.

9.6. Zweite Inkubation

Zugabe von 100 µl Konjugat 1 Conjugate | 1 in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte abgedeckt und für 30 Minuten bei 37 °C inkubiert.

9.7. Zweiter Waschschritt

Nach Ablauf der Inkubationszeit sollte das Konjugat 1 in den Kavitäten zunächst in einen Abfallbehälter mit Hypochlorit-Lösung zwecks Desinfektion entleert werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5-mal mit jeweils 300 µl verdünntem Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

9.8. Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Konjugat 2 Conjugate | 2 in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte abgedeckt und für 15 Minuten bei 37 °C inkubiert.

9.9. Dritter Waschschritt

Nach Ablauf der Inkubationszeit sollte das Konjugat 2 in den Kavitäten zunächst in einen Abfallbehälter mit Hypochlorit-Lösung zwecks Desinfektion entleert werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5-mal mit jeweils 300 µl verdünntem Waschpuffer gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen.

9.10. Vierte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat **Substrate** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 10 Minuten abgedunkelt bei 37 °C inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz **Stop** in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt.

Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion bei 450 nm (Referenzfilter 620 nm) gemessen.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle müssen bei jeder Testdurchführung die Standards 1 bis Standard 6 **Standard | 1** – **Standard | 6** (empfohlen in Doppelbestimmung), die Positivkontrolle **Control | +** und die niedrige Positivkontrolle **Low Control | +** mitgeführt werden, um Reagenzien-Stabilität und die korrekte Testdurchführung sicherzustellen.

Folgende Spezifikationen müssen bei jedem Lauf getroffen werden, um valide zu sein:

O.D. Wert für Standard 1 **Standard | 1** > 0,080

O.D. Wert für Standard 6 **Standard | 6** > 1,400

Wird eine der Spezifikationen nicht getroffen sollte der Lauf wiederholt werden.

Konzentrationen für die Niedrige Positiv Kontrolle **Low control | +** :

0,375 ng/ml, Bereich 0,25 - 0,50 ng/ml

Konzentrationen für die Positiv Kontrolle **Control | +** :

3 ng/ml, Bereich 2 - 4 ng/ml

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, oder wenn das Substrat trübe oder blau ist, bevor es auf die Platte gegeben wird, kann dies ein Zeichen dafür sein, dass die Haltbarkeit des Tests überschritten ist. Wenn die angegebenen Werte nicht getroffen werden, müssen die folgenden Punkte geprüft werden:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Im Falle eines hohen Hintergrunds (OD von Standard 1 > 0,08) waren die Waschschriffe ungenügend. Der Test sollte wiederholt werden und die Waschschriffe gründlicher durchgeführt werden (erhöhte Anzahl an Waschzyklen, erhöhte Absaugzeit).

Sind nach Testwiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm-Distributor.

11. Auswertung und Interpretation

Für die Ergebnisermittlung wird die Auswertesoftware RIDA®SOFT Win.net benötigt. Die RIDA®SOFT Win.net bzw. ein Update kann auf Anfrage von der R-Biopharm AG oder über Ihren lokalen R-Biopharm-Distributor bezogen werden.

Alternativ zur RIDA®SOFT Win.net kann auch andere Auswertesoftware, die das 4-Parameter-logistic-log-Modell zur Verfügung stellt, verwendet werden.

Die Auswertung des RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies erfolgt über eine Standardkurve, die bei jedem Lauf mitgeführt werden muss.

Die R-Biopharm AG ermittelt in der Qualitäts-Endkontrolle unter optimalen Testbedingungen für jede Kitcharge einen Zielbereich und einen erlaubten Konzentrationsbereich für Positivkontrolle und Low-Positivkontrolle.

Der Verdünnungsfaktor wird entsprechend der therapeutisch relevanten Phase gewählt und muss bei der Bestimmung der IFX-Konzentrationen mit einberechnet werden.

Beispiel: Das Ergebnis der 1:25 verdünnten Probe, welches durch Interpolation der Kalibrationskurve erzielt wurde liegt bei 2 ng/ml. Die entsprechende ATI Konzentration der unverdünnten Probe ist somit 50 ng/ml.

Beispiel: Das Ergebnis der 1:200 verdünnten Probe, welches durch Interpolation der Kalibrationskurve erzielt wurde liegt bei 2 ng/ml. Die entsprechende ATI Konzentration der unverdünnten Probe ist somit 400 ng/ml.

Wenn sowohl die 1:25 und die 1:200 Verdünnung in einer messbaren Konzentration resultiert, wird der Mittelwert beider Werte berechnet und ausgegeben.

Wenn die RIDA®SOFT Win.net Software benutzt wird, wird dies automatisch durchgeführt, wenn die entsprechende Methode ausgewählt wird:

Bei einer 1:25 Verdünnung: RIDA®SOFT Win.net-Methode A-IFX25.met

Bei einer 1:200 Verdünnung: RIDA®SOFT Win.net-Methode A-IFX200.met

Die Konzentration wird in ng/ml angegeben.

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies ist ein Drug-sensitiver Test und detektiert nur die freien, ungebundenen anti-IFX Antikörper. Um ein optimales Ergebnis zu erzielen wird geraten, die Anti-IFX Antikörper in Serum/Plasma Proben direkt vor der nächsten Medikamentengabe zu messen.

Individuelle ATI Konzentrationen, welche mit dem RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies bestimmt werden, können nicht als einziger Indikator für eine Änderung des Behandlungsschemas herangezogen werden. Jeder Patient sollte vor Änderungen des Behandlungsschemas gründlich klinisch untersucht werden.

13. Leistungsmerkmale

13.1. Beispiel typischer O.D. Werte

Standard	O.D.
1	0,031
2	0,083
3	0,269
4	0,543
5	1,539
6	2,685

13.2. Präzision

13.2.1. Intra-Assay-Präzision

Die Intra-Assay Präzision wurde mit 3 Referenzen in je 21 Replikaten in einem Lauf getestet. Aus den OD-Werten dieser Messungen wurden die ATI-Konzentrationen über die Standardkurve ermittelt und daraus die Mittelwerte (MW), die Standardabweichungen (SD) und die Variationskoeffizienten (VK) der Messungen für jede Probe errechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Referenz	1	2	3
Mittelwert (ng/ml)	0,67	1,25	2,44
SD	0,05	0,08	0,14
% VK	7,5	6,7	5,9

13.2.2. Inter-Assay-Präzision

Die Inter-Assay Präzision wurde mit 2 Referenzen in 3 Läufen getestet. Aus den OD-Werten dieser Messungen wurden die ATI-Konzentrationen ermittelt und daraus die Mittelwerte (MW), die Standardabweichungen (SD) und die Variationskoeffizienten (VK) der Messungen für jede Probe errechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Referenz	1	2
Mittelwert (ng/ml)	0,36	2,25
SD	0,05	0,27
% VK	12,4	11,9

13.3. Spezifität

13.3.1. Humanes Serum/ Plasma gesunder Personen

Die Spezifität wurde durch die Testung von 100 Donor-Proben von nicht behandelten Personen, holländischen Ursprungs erhoben. Keine der Proben zeigte eine detektierbare Konzentration von ATI, was einer Spezifität von 100 % entspricht.

13.3.2. Interferenz

Eine mögliche Interferenz mit dem Rheumatoidem Faktor (RF) wurde in einem Panel klinischer Proben untersucht. Die Proben stammten von Patienten, die unter Autoimmunerkrankungen litten oder positiv für RF waren. Die Ergebnisse zeigen, dass RF keine Interferenz im RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies zeigt.

Eine Auswahl von 35 potentiell interferierenden Proben wurde getestet. Diese enthielt HAMA positive, lipämische und hämolysierte Proben und solche mit hohen Bilirubin-, Protein- und Cholesterol- Werten, sowie Proben von schwangeren Frauen der ersten Schwangerschaftshälfte. Es wurde keine Wechselwirkung mit den getesteten Faktoren gefunden.

13.4. Analytische Sensitivität

Die untere Messgrenze liegt bei einer ATI Konzentration von 0,06 ng/ml.

Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors von 1:25 entspricht dies einer Konzentration von 1,5 ng/ml.

Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors von 1:200 entspricht dies einer Konzentration von 12 ng/ml.

Bei einer Verdünnung von 1:25 sollte eine Konzentration, welche unter 2,5 ng/ml liegt, was dem untersten Standard entspricht, mit < 2.5 ng/ml angezeigt werden.

Bei einer 1:200 Verdünnung sollte eine Konzentration, welche unter 20 ng/ml liegt, mit < 20 ng/ml angezeigt werden.

13.5. Diagnostische Sensitivität

Ein klinisches Probenpanel mit 36 Proben wurde sowohl im RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies als auch mit einem Referenzassay der KU Leuven (ATA ELISA) analysiert. Die Ergebnisse des RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies und des Referenzassays wurden verglichen. Alle 24 Proben, die im Referenzassay nachweisbare ATI-Konzentrationen hatten wurden auch im RIDASCREEN® IFX Monitoring positiv bestimmt. Dies entspricht einer diagnostischen Sensitivität von 100 %.

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2019-11-05	2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests 9.4 Erste Inkubation 16. Literatur

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	Verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

Plate	Mikrotiterplatte
Standard 1-6	Standard 1 - 6
Low Control +	Niedrige Positivkontrolle
Control +	Hohe Positivkontrolle
Diluent	Probenverdünnungspuffer
Conjugate 1	Konjugat 1
Conjugate 2	Konjugat 2
Substrate	Substrat
Wash	Waschpuffer (20x)
Stop	Stop-Reagenz

16. Literatuur

1. Vogelaar L, Spijker AV, van der Woude CJ. The impact of biologics on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol* 2009;2:101-109.
2. Yanai H, Hanauer SB. Assessing response and loss of response to biological therapies in IBD. *Am J Gastroenterol* 2011;106:685-698.
3. Baert F, Noman M, Vermeire S, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003;348:601-608.
4. Ducourau E, Mulleman D, Paintaud G, et al. Antibodies toward infliximab are associated with low infliximab concentration at treatment initiation and poor infliximab maintenance in rheumatic diseases. *Arthritis Res Ther* 2011;13:R105.
5. Vande Casteele N, Ferrante M, Van Assche G, et al. Trough concentrations of infliximab guide dosing for patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2015;148:1320-1329.
6. Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen OO, et al. Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: a randomised, controlled trial. *Gut* 2014;63:919-927.
7. Van Stappen T, Billiet T, Vande Casteele N, et al. An Optimized Anti-infliximab Bridging Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Harmonization of Anti-infliximab Antibody Titers in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:2172-2177