

阿狄科®游离抗戈利木单抗抗体检测试剂盒（酶联免疫法）说明书

货号：K9649

【产品名称】

通用名称：阿狄科®游离抗戈利木单抗抗体检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：IDKmonitor® Golimumab free ADA ELISA

【包装规格】96人份/盒

【预期用途】

用于体外测定人血清和EDTA血浆中的游离抗戈利木单抗抗体（如辛普尼®）。仅供科研使用。

【背景知识】

克罗恩病、溃疡性结肠炎、类风湿性关节炎或银屑病等慢性炎症性疾病越来越多地使用抗TNF α 抗体进行治疗，直接针对潜在的炎症过程。

抗TNF α 治疗的临床疗效通常与治疗性抗体的谷浓度相关，即下一次应用抗TNF α 抗体之前的药物浓度。有几个因素影响谷浓度，其中包括抗TNF α 拮抗剂输注的剂量和频率、疾病活动度、个体药代动力学和免疫反应（形成抗药物抗体，ADA）[1, 2]。人们认为，ADA在功能性上中和了治疗性抗体或诱导其快速消除。ADA形成的后果可能是治疗失败和抗TNF α 抗体应用期间的过敏反应[1,3]。

用于测定抗戈利木单抗抗体（如辛普尼®）的阿狄科®游离抗戈利木单抗抗体检测试剂盒（酶联免疫法）可测定游离抗戈利木单抗抗体。结合戈利木单抗药物浓度测定，阿狄科®游离抗戈利木单抗抗体检测试剂盒（酶联免疫法）为主治医师提供了早期监测和优化治疗的机会。

【检验原理】

本试剂盒用于测定游离抗戈利木单抗抗体（如辛普尼®）。在第一个孵育步骤，样本中的游离抗治疗性抗体与预包被于微孔内的戈利木单抗 F(ab)₂ 片段结合。洗板后，所有未结合的物质被清除。在第二个孵育步骤，加入过氧化物酶标记的戈利木单抗。洗板后，所有未结合的物质被清除。固相与底物（四甲基联苯胺溶液）一起孵育。最终，加入终止液终止反应，颜色变为黄色。用光度法测定有色混合物的吸光度。颜色的强度与样本中结合抗戈利木单抗抗体的量成正比。结果根据临界质控进行评估。

【主要组成成分】

组分货号	组分名称	组分构成	数量
K 9649	PLATE	预包被 (F(ab) ₂) 微孔板	12 x 8 孔
K 0001.C.100	WASHBUF	10x 浓缩洗液	1 x 100ml
K 9649	CONJ	浓缩酶结合物（治疗抗体）过氧化物酶标记	1 x 200 μ l
K 9649	CTRL NEG	阴性质控，冻干粉（范围详见规格表）	4 x 1 瓶
K 9649	CTRL POS	阳性质控，冻干粉	4 x 1 瓶

		（范围详见规格表）	
K 9649	CTRL CUT-OFF	临界质控，冻干粉	4 x 1 瓶
K 9649	SAMPLEB UF	样本稀释缓冲液，即用型	1 x 30ml
K 0002.15	SUB	底物（四甲基联苯胺溶液），即用型	1 x 15ml
K 0003.15	STOP	终止液，即用型	1 x 15ml

注：不同批号的组分不能混用。详见试剂盒标签。

【储存条件及有效期】

试剂在 2-8 $^{\circ}$ C 下保存可稳定至所标示的有效期。

生产日期及失效日期见试剂盒标签。

【适用仪器】

适用于具有 450nm、620nm 波长的酶标仪。

【样本要求】

EDTA 血浆或血清

实验前，EDTA 血浆或血清样本必须按 1:10 的比例稀释（例如：25 μ l 样本 +225 μ l 样本缓冲液），混匀。

如复孔检测样本，移取 2 x 100 μ l 至待测孔中。

样本保存

新鲜采集的 EDTA 血浆或血清在室温（15-30 $^{\circ}$ C）可保存 1 天，若长期保存，请保存于 -20 $^{\circ}$ C。

【检验方法】

1. 自备材料

- 超纯水
- 校准过的高精度移液器和 10-1000 μ l 一次性枪头
- 吸水纸
- 微孔板封板膜
- 水平微孔板振荡器
- 多道移液器或连续加样枪
- 离心机
- 漩涡仪
- 标准实验室用的玻璃杯或者塑料瓶，杯子等
- 酶标仪（波长 450nm、620nm 或 690nm）

注：推荐使用超纯水（水类型 1；ISO 3696），不含未溶解的胶体离子和有机分子（不含 >0.2 μ m 的颗粒）25 $^{\circ}$ C 时的电导率为 0.055 μ S/cm (\geq 18.2M Ω cm)。

2. 试剂准备

- 实验前将所有试剂和样本平衡至室温（15-30 $^{\circ}$ C），混匀；
- 确定实验所需微孔板条数量，将未使用的微孔板条放回含有干燥剂的铝箔袋中，密封保存于 2-8 $^{\circ}$ C，可保存至所标示的有效期；
- 若试剂使用超过 1 次，确保按照标签标示的条件贮存，每次实验仅制备需要的量。试剂在有效期内可使用 4 次；
- 少于 100 μ l 的试剂在使用前必须离心，避免容积减少；
- 制备工作洗液：**浓缩洗液必须用超纯水按 1:10 的比例稀释（100ml 浓缩洗液+900ml 超纯水），混匀。由于盐浓度较高，可能会出现结晶。稀释前，必须在室温或者 37 $^{\circ}$ C 水浴将晶体溶解。浓缩洗液在 2-8 $^{\circ}$ C 可保存至标示的有效期。工作洗液（1:10 稀释）储

存于密封的容器，在 2-8℃可保存一个月；

- **制备质控品（阴性质控、阳性质控和临界质控）：**冻干的质控品在 2-8℃可保存至标示的有效期。复溶详情详见规格表。复溶后的质控品不稳定，不能保存；
- **制备酶结合物：**浓缩酶结合物必须用工作洗液按 1:101 的比例稀释（100μl 浓缩酶结合物+10ml 工作洗液）。浓缩酶结合物在 2-8℃可保存至标示的有效期。已稀释的酶结合物不稳定，不能保存；
- 其他所有组分可直接使用，在 2-8℃可保存至标示的有效期。

3. 操作步骤

在方案表上标记质控品和样本的位置。

若使用全自动酶标仪检测，以下操作步骤需要根据全自动酶标仪的特性进行调整。

建议所有样本进行复孔检测。

- 1) 使用前，用工作洗液 250μl/孔，洗板 5 次，在进入下一步前，在吸水纸上用力拍打倒置的板以除去多余的洗液。
- 2) 加入质控品和已稀释的样本各 100μl 至相应微孔中。
- 3) 用封板膜将微孔板孔封好，室温（15-30℃）下在水平微孔板振荡器上震荡孵育 1 小时*。
- 4) 倒掉孔内液体，用工作洗液 250μl/孔，洗板 5 次，在进入下一步前，在吸水纸上用力拍打倒置的板以除去多余的洗液。
- 5) 每孔加入已稀释的酶结合物 100μl。
- 6) 用封板膜将微孔板孔封好，室温（15-30℃）下在水平微孔板振荡器上震荡孵育 1 小时*。
- 7) 倒掉孔内液体，用工作洗液 250μl/孔，洗板 5 次，在进入下一步前，在吸水纸上用力拍打倒置的板以除去多余的洗液。
- 8) 每孔加入底物 100μl。
- 9) 室温（15-30℃）下避光孵育 10-20 分钟**。
- 10) 每孔加入终止液 100μl，混匀。
- 11) 立刻读取 450nm（参考波长 620nm 或者 690nm）波长处的吸光度。如果最高 OD 值超出酶标仪的测量范围，立刻读取 405nm（参考波长 620nm）的吸光度。

*建议震荡频率为 550 rpm，轨道为 2mm。

**颜色强度的变化对温度敏感，建议观察颜色变化，在有明显区别时终止反应。

注意：

- 同一实验，不同批号的组分不能混用。此外，建议不要混用不同微孔板的微孔，即使是同一个批号，因为已开封的微孔与未开封的微孔暴露在不同的环境下；
- 每次实验都要分析质控品；
- 不能使用超过有效期的试剂；
- 使用前，底物液必须是无色的；
- 孵育时，贴上封板膜以确保结果的准确性；
- 混匀试剂时，避免产生气泡；
- 不同试剂的瓶塞、瓶盖不可混用；
- 按照说明书操作实验。

【参考区间】

目前尚未明确参考范围，各实验室应根据情况确定自己的参考范围。

【检验结果的解释】

使用临界质控对结果进行分析。样本OD值高于临界质控

OD值的为阳性，低于临界质控OD值的为阴性。

Cut-off = 10AU/ml = 临界质控的OD值

建议使用线性纵坐标和横坐标进行线性回归来计算样本浓度。

计算结果前，需要对双孔的两个OD值的合理性进行评估。如果软件无法自动计算，需手动计算。

阳性样本的计算：

患者样本的平均OD值：0.735

临界质控的平均OD值：0.065 = 10 AU/ml

患者样本的浓度： $\frac{0.735 \times 10 \text{ AU/ml}}{0.065} = 113 \text{ AU/ml}$

质量控制

如可能，建议使用外部质控作为内部质控。

每次实验都应分析质控品。分析质控品后，得出的结果应当使用适当的统计学方法，评估其可接受性。如果质控品的值超出范围，样本结果可能无效。

【检验方法的局限性】

测量范围的下限是 LoB。（LoB 详见【产品性能指标】）样本浓度低于测量范围的，无法明确量化。

【产品性能指标】

准确度——精密度

重复性（批内测定）：n=20

重复性在恒定参数下采用 3 个血清样本进行评估（同一操作员、仪器、日期和同一批号的试剂盒）。

样本	均值[AU/ml]	CV[%]
1	80.47	2.6
2	40.45	3.6
3	20.65	6.2

可重现性（批间测定）：n=22

可重现性在不同参数下采用 4 个血清样本进行评估（不同操作员、仪器、日期和不同批号的试剂盒）。

样本	均值[AU/ml]	CV[%]
1	91.15	8.1
2	48.00	9.4
3	25.17	8.9
4	13.08	10.2

线性

线性表示的是一种方法的能力，在给定区间的检测样本中，分析物的浓度和结果成正比。根据 CLSI 指南 EP06-A，对 1 个血清样本进行连续稀释，以评估线性。

对于血清和血浆中的抗戈利木单抗抗体，已证明该方法在 8.31-132.93 AU/ml 之间呈线性关系，该区间内非线性行为为小于±20%。

批号	天数	稀释比例	预期值 [AU/ml]	测量值 [AU/ml]	回收率 [%]
1	1	未稀释	110.43	110.43	100.00
		1:2	55.22	49.02	88.78
		1:4	27.61	27.10	98.14
		1:8	13.80	12.99	94.07
	2	未稀释	95.67	95.67	100.00
		1:2	47.84	48.87	102.16
		1:4	23.92	26.14	109.30
		1:8	11.96	12.53	104.75
2	1	未稀释	132.93	132.93	100.00
		1:2	66.47	60.21	90.59
		1:4	33.23	29.91	90.00
		1:8	16.62	16.31	98.15
		1:16	8.31	7.10	85.43
	2	未稀释	118.30	118.30	100.00
		1:2	59.15	61.12	103.33

	1:4	29.57	31.53	106.63
	1:8	14.79	16.21	109.64

灵敏度分析

(空白限) LoB=7.66 AU/ml

(检测限) LoD=9.83 AU/ml

(定量限) LoQ=10 AU/ml

LoQ 的特定精度目标是 10% CV。

【注意事项】

1. 试剂盒中的所有试剂仅用于体外；
2. 试剂盒组分的人源性材料均被检测，其 HIV、乙型肝炎、丙型肝炎为阴性。然而，为了安全起见，所有试剂组分应当做潜在传染源对待；
3. 试剂包含叠氮化钠或者 Proclin 作为杀菌剂。叠氮化钠和 Proclin 具有毒性。用于酶显色反应的底物具有毒性和致癌性，避免接触皮肤或粘膜；
4. 终止液包含稀释的硫酸（强酸的一种）。尽管已经稀释，仍需要小心处理。它可能引起灼伤，处理时，应该戴手套、护目用具和适当的防护服。任何液体溢出，必须用大量的水清洗；不要吸入蒸汽，避免吸入。
5. 10x 浓缩洗液含有表面活性剂，接触到眼睛可能导致严重的眼睛刺激。如不慎入眼：用水小心冲洗几分钟。取出隐形眼镜（如果有并且容易取出的话）。继续冲洗。如果眼睛刺激持续存在：遵医嘱。
6. 本试剂盒依据 98/79/EC 的 IVD 指南生产和销售；
7. 请遵守实验室准则；
8. IDKmonitor® 是 Immundiagnostik AG 的商标；
9. 孵育时间、孵育温度以及加样量由生产商制定，任何与生产商规定不一致的变化，可能会影响检测结果。因此，本公司不承担任何由错误操作引起的后果；
10. 若有索赔和投诉，必须在收到货后 14 天内，将产品和书面投诉寄到本公司（Immundiagnostik AG）。

【参考文献】

1. Ordás, Ingrid, Diane R Mould, Brian G Feagan, and William J Sandborn. 2012. "Anti-TNF Monoclonal Antibodies in Inflammatory Bowel Disease: Pharmacokinetics-Based Dosing Paradigms." *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 91 (4). Nature Publishing Group: 635-46. doi:10.1038/clpt.2011.328.
2. Xu, Zhenhua, Thuy Vu, Howard Lee, Chuanpu Hu, Jie Ling, Hong Yan, Daniel

Baker, et al. 2009. "Population Pharmacokinetics of Golimumab, an Anti-Tumor Necrosis Factor-Alpha Human Monoclonal Antibody, in Patients with Psoriatic Arthritis." *Journal of Clinical Pharmacology* 49 (9): 1056-70. doi:10.1177/0091270009339192.

3. Vincent, Fabien B, Eric F Morand, Kim Murphy, Fabienne Mackay, Xavier Mariette, and Christian Marcelli. 2013. "Antidrug Antibodies (ADAb) to Tumour Necrosis Factor (TNF)-Specific Neutralising Agents in Chronic Inflammatory Diseases: A Real Issue, a Clinical Perspective." *Annals of the Rheumatic Diseases* 72 (2): 165-78. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202545.

【标识的解释】

	温度极限		货号
	体外诊断医疗器械		与...一起使用
	制造商		含量足够测试 <n> 次
	批号		有效期
	注意事项		查阅使用说明
	查阅技术数据表		

【基本信息】

生产企业名称：Immundiagnostik AG
 住所：Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany
 生产地址：Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany
 电话：+49625170190-0 传真：+496251849430
 邮箱：info@immundiagnostik.com
 网址：www.immundiagnostik.com
 中国总代理商及售后服务单位名称：
 广东固康生物科技有限公司
 住所：广州市黄埔区开源大道 11 号加速器 B4 栋 405-410 室
 电话：020-32293176 18927505895（微信同号）
 传真：020-32293177
 邮箱：sales@gucon.com
 网址：www.gucon.com

仅供参考，请以原版英文说明书为准！