

阿狄科®乌司奴单抗药物浓度检测试剂盒（酶联免疫法）说明书

货号：K9660

【产品名称】

通用名称：阿狄科®乌司奴单抗药物浓度检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：IDKmonitor® ustekinumab drug level ELISA

【包装规格】96人份/盒

【预期用途】

用于体外定量测定EDTA血浆和血清中的游离治疗性乌司奴单抗抗体（如喜达诺®）。仅供科研使用。

【背景知识】

乌司奴单抗是一种靶向p40的单克隆人类治疗性抗体，白介素12和23 (IL-12/23)的常见亚基。这两种细胞因子在免疫介导的炎症性疾病如克罗恩病、银屑病或多发性硬化症中发挥着基础性作用。乌司奴单抗阻断IL-12/23信号通路，从而抑制细胞介导的免疫应答[1]。

抗IL-12/23治疗的临床疗效通常与治疗性抗体的谷浓度相关，即在下次用药前的药物浓度。有几个因素影响谷浓度，其中包括抗IL-12/23治疗的剂量和频率、疾病活性、个体药代动力学和免疫反应（形成抗药物抗体，ADA）[2]。

阿狄科®乌司奴单抗药物浓度检测试剂盒（酶联免疫法）用于测定乌司奴单抗（如喜达诺®）药物浓度，为主治医师提供了早期监测和优化治疗的机会。

【检验原理】

本试剂盒用于定量测定 EDTA 血浆或血清样本中的游离乌司奴单抗（抗白介素 12 和 23 的治疗性抗体）。在第一个孵育步骤，样本中的游离乌司奴单抗与微孔板包被的特异性单克隆抗乌司奴单抗抗体结合。洗涤后，加入过氧化物酶标记的抗乌司奴单抗抗体，检测结合到微孔板的乌司奴单抗。四甲基联苯胺(TMB)用作过氧化物酶的底物。最后，加入终止液终止反应。颜色由蓝色变为黄色。颜色的强度与样本中的游离乌司奴单抗浓度成正比。根据校准品的值，生成吸光度单位（光密度，OD）与浓度的剂量反应曲线。样本中的游离乌司奴单抗浓度直接在曲线上确定。

【主要组成成分】

组分货号	组分标签	组分构成	数量
K 9660	PLATE	预包被微孔板	12 x 8 孔
K 0001.C.100	WASHBUF	10x 浓缩洗液	2 x 100ml
K 9660	CONJ	浓缩酶结合物，过氧化物酶标记	1 x 200µl
K 9660	STD	校准品，冻干粉（浓度详见规格表）	4 x 6瓶
K 9660	CTRL 1	质控品 1，冻干粉（范围详见规格表）	4 x 1瓶
K 9660	CTRL 2	质控品 2，冻干粉（范围详见规格表）	4 x 1瓶
K 9660	SAMPLEB	样本稀释缓冲	2 x 100ml

	UF	液，即用型	
K 0002.15	SUB	底物（四甲基联苯胺），即用型	1 x 15ml
K 0003.15	STOP	终止液，即用型	1 x 15ml

【储存条件及有效期】

试剂在 2-8℃ 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】

样本保存

新鲜采集的 EDTA 血浆或血清在室温（15-30℃）或 4℃ 下可保存 7 天，在 -20℃ 下可保存 6 个月。

样本制备

实验前，EDTA 血浆或血清样本必须按 1:200 的比例稀释（例如：10µl 样本+1990µl 样本稀释缓冲液），混匀。若复孔操作，取每种制备好的样本每孔 2 x 100µl。

【检验方法】

1. 自备材料

- 超纯水
- 校准过的高精度移液器和 10-1000µl 一次性枪头
- 多道高精度移液器或连续加样枪
- 吸水纸
- 微孔板封板膜
- 水平微孔板振荡器
- 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 >0.2µm 的颗粒）25℃ 时的电导率为 0.055µS/cm (≥18.2MΩcm)。

2. 试剂准备

- 实验前将所有试剂和样本平衡至室温（15-30℃），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℃，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 100µl 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℃ 水浴将晶体溶解。浓缩洗液在 2-8℃ 可保存至标示的有效期。工作洗液（1:10 稀释）储存于密封容器中，在 2-8℃ 可保存一个月；
- 制备校准品和质控品：**冻干的校准品和质控品在 2-8℃ 可保存至标示的有效期。复溶详情见规格表。复溶

后的校准品和质控品不稳定，不能保存；

- **制备结合物溶液：**浓缩酶结合物必须用工作洗液按 1:101 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。稀释后的酶结合物不稳定，不能保存；
- 其他试剂可直接使用。试剂在 2-8℃可保存至标示的有效期。

3. 操作步骤

在方案表上标记校准品、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) 加入校准品、质控品和稀释后的样本各 100μl 至相应微孔中。
- 2) 用封板膜将微孔板孔封好，室温（15-30℃）下在水平微孔板震荡器上震荡孵育 1 小时*。
- 3) 倒掉孔内液体，用工作洗液 250μl/孔洗板 5 次，在进入下一步前，于吸水纸上用力拍打倒置的板以除去多余的洗液。
- 4) 每孔加入已稀释的酶结合物 100μl。
- 5) 用封板膜将微孔板孔封好，室温（15-30℃）下在水平微孔板震荡器上震荡孵育 1 小时*。
- 6) 倒掉孔内液体，用工作洗液 250μl/孔洗板 5 次，在进入下一步前，于吸水纸上用力拍打倒置的板以除去多余的洗液。
- 7) 每孔加入底物 100μl。
- 8) 室温（15-30℃）下避光孵育 10-20 分钟**。
- 9) 每孔加入终止液 100μl，混匀。
- 10) 立刻读取 450nm（参考波长 620nm 或 690nm）波长处的吸光度。如果没有合适的参考波长，仅读取 450nm 波长处的吸光度。如果最高校准品的 OD 值超出酶标仪的测量范围，立刻读取 405nm（参考波长 620nm）处的吸光度。

*建议震荡频率为 550 rpm，轨道为 2mm。

**颜色变化的强度对温度敏感，推荐观察颜色变化，在有明显区别时终止反应。

注意：

- 同一实验，不同批号的试剂组分不能混用。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；
- 请勿使用失效的试剂盒；
- 底物使用前应保持无色；
- 为确保结果精确，孵育时，有必要使用封板膜；
- 混合试剂时，应避免产生气泡；
- 不同试剂的瓶塞或瓶盖不要弄混；
- 实验时应严格按照产品说明书操作。

【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】

下列算法都可用于计算结果，建议使用 4 参数曲线计算。

1. 4 参数曲线

建议使用线性纵坐标表示 OD 值，对数横坐标表示浓度。使用对数横坐标时，校准品 0 必须用小于 1 的值（例如 0.001）。

2. 点对点计算

建议线性纵坐标为 OD 值，线性横坐标为浓度。

3. Spline 曲线

推荐线性纵坐标为 OD 值，线性横坐标为浓度。

在自动评估结果之前，应检查重复值的合理性。如果使用的程序没有此选项，则应手动计算重复值。

EDTA 血浆和血清样本

获得的结果必须乘以稀释因子 200 才能得到实际浓度。

如果使用了其他稀释因子，所得结果须乘以相应的稀释因子。

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】

样本浓度超出测量范围的，需进一步稀释和重新实验。

计算结果时，请考虑较高的稀释度。

样本浓度低于测量范围的，无法明确量化。

测量范围上限：

校准曲线的最高浓度 X 使用的样本稀释因子

测量范围下限：

LoB X 使用的样本稀释因子

LoB 详见【产品性能指标】。

【产品性能指标】

精确度-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[ng/ml]	CV [%]
1	116.30	5.7
2	54.94	3.0
3	25.52	2.6

可重现性（批间测定）：n = 52

可重现性在不同参数下采用 3 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[ng/ml]	CV[%]
1	113.23	6.3
2	54.95	5.3
3	27.15	5.0

精确度-准确度

准确度是指检测结果与被测物真实值之间的一致性。因此，将已知浓度的乌司奴单抗添加到 2 种不同的血清样本中。

样本 [ng/ml]	添加值 [ng/ml]	期望值 [ng/ml]	获得值 [ng/ml]	回收率 [%]
	225.00	225.00	242.35	108
	175.00	175.00	195.15	112
	125.00	125.00	119.85	96

< LoB	75.00	75.00	70.95	95
	50.00	50.00	49.35	99
	25.00	25.00	24.60	98
	12.50	12.50	13.55	108
< LoB	225.00	225.00	255.35	113
	175.00	175.00	173.85	99
	125.00	125.00	123.10	98
	75.00	75.00	67.65	90
	50.00	50.00	44.95	90
	25.00	25.00	22.55	90
	12.50	12.50	11.35	91

戈利木单抗	4.2-225	<0.503	<LoB
依那西普	4.2-225	<0.503	<LoB
维多珠单抗	15.6-1000	<0.503	<LoB

【注意事项】

1. 试剂盒中的所有试剂仅用于体外；
2. 试剂含有叠氮化钠或者 ProClin 做为杀菌剂。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，避免接触皮肤和粘膜；
3. 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。
4. 终止液含有稀释的硫酸（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. 本试剂盒依据 98/79/EC 的 IVD 指导生产和销售。
6. 请遵守实验室准则。
7. IDKmonitor®是 Immundiagnostik AG 的商标。
8. 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；
9. 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. Scherl EJ, Kumar S & Warren RU (2010) Review of the safety and efficacy of ustekinumab. Therap. Adv. Gastroenterol. 3: 321–328.
2. Chiu HY, Chu TW, Cheng YP & Tsai TF (2015) The association between clinical response to ustekinumab and immunogenicity to ustekinumab and prior adalimumab. PLoS One 10: 1–10.

【标识的解释】

	温度极限	REF	货号
IVD	体外诊断医疗器械	→REF	与...一起使用
	制造商		含量足够测试<n>次
LOT	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

灵敏度分析

以下值是根据校准曲线的浓度估算的，没有考虑可能使用的样本稀释因子。

空白限（LoB）= 0.503 ng/ml

检测限（LoD）= 0.942 ng/ml

定量限（LoQ）= 1.470 ng/ml

根据 CLSI 指南 EP17-A2 进行评估。LoQ 的特定精度目标是 20% CV。

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 2 个不同的血清样本进行连续稀释，以评估线性。

对于血清和血浆中的乌司奴单抗，已证明该方法在 4.35-299.00ng/ml 之间呈线性关系，该区间内非线性行为小于±20%。

样本	稀释比例	期望值 [ng/ml]	获得值 [ng/ml]	回收率[%]
A	1:200	300.00	299.00	100
	1:400	150.00	151.05	101
	1:800	75.00	71.10	95
	1:1600	37.50	32.80	87
	1:3200	18.75	16.75	89
	1:6400	9.37	9.20	98
	1:12800	4.68	5.05	108
B	1:200	300.00	295.35	98
	1:400	150.00	143.85	96
	1:800	75.00	70.00	93
	1:1600	37.50	31.40	84
	1:3200	18.75	16.10	86
	1:6400	9.37	8.35	89
	1:12800	4.68	4.35	93

特异性分析

抗体的特异性是通过测量与乌司奴单抗结构相似的一系列化合物的交叉反应性来检测的。没有观察到交叉反应。

测试物质	添加浓度 [ng/ml]	获得浓度 [ng/ml]	结论
英夫利昔单抗	4.2-225	<0.503	<LoB
阿达木单抗	4.2-225	<0.503	<LoB

电话: +49 6251 70190-0 传真: + 49 6251 849430
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
地址:广州市黄埔区开源大道 11 号加速器 B4 栋 405-410
室

电话: 020-32293178 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!