

RIDASCREEN® IFX Monitoring

REF G09041



1. Účel použití

K diagnostickému použití *in vitro*. Test RIDASCREEN® IFX Monitoring je imunoanalýza na bázi imunoenzymatické reakce určená ke kvantitativnímu stanovení infliximabu (IFX, Remicade®) v lidském séru a plazmě.

2. Souhrn a vysvětlení testu

Terapeutické monitorování léčiv

Infliximab (IFX) je chimerická terapeutická monoklonální protilátka cílící na prozánětlivý cytokin TNF α . Zavedení infliximabu znamenalo revoluci v léčbě chronických zánětlivých onemocnění, jako je chronické zánětlivé onemocnění střev (IBD), revmatická artritida (RA) a spondyloartritida. Ukázalo se, že infliximab může vyvolat hlubokou remisi a zlepšit kvalitu života pacienta. ^[1] Někteří pacienti na léčbu IFX ihned po zahájení neodpovídají (primárně neodpovídající pacienti), zatímco jiní po čase odpovídat přestanou (sekundárně neodpovídající pacienti). ^[2]

Farmakologický účinek léčiva se může uplatnit, pouze pokud jsou dosaženy adekvátní koncentrace v oběhu. Koncentrace infliximabu v séru v okamžiku před podáním další infuze, definována jako minimální koncentrace, je používána k terapeutickému monitorování léčiv (TDM). Nedávná data TDM ukázala, že dobrá klinická odpověď je u pacientů s IBD ^[3] a RA^[4, 5] spojena s adekvátní minimální koncentrací. TDM může být tedy velmi nápomocné při optimalizaci léčby a překonání sekundární ztráty odpovědi. Test RIDASCREEN® IFX Monitoring využívá vysoce specifickou monoklonální protilátku (MA-IFX6B7), která byla izolována a charakterizována na univerzitě KU Leuven.^[6] Detekuje pouze infliximab; ukázalo se, že ostatní anti-TNF léčiva, jako je adalimumab nebo golimumab, měření nenarušují. ^[6]

Přípravky biologicky podobné infliximabu (Remsima®, Inflectra® a Flixabi®) jsou pomocí testu RIDASCREEN® IFX Monitoring kvantifikovány stejně dobře. ^[7]

Chronické zánětlivé onemocnění střev (IBD)

Níže je popsána diagnostická hodnota TDM u pacientů s IBD v zahajovací i udržovací fázi léčby.

Zahajovací fáze léčby: Ukázalo se, že minimální koncentrace IFX během (po) zahájení léčby je spojena s trvalou klinickou odpovědí. ^[8, 9] Měření minimálních koncentrací infliximabu během zahajovací fáze léčby nebo krátce po ní může pomoci s rozpoznáním pacientů s nízkou dávkou a s optimalizací dávky u jednotlivých osob. ^[10]

Udržovací fáze léčby: Ukázalo se, že u pacientů s trvalými koncentracemi infliximabu během udržovací fáze léčby je vyšší pravděpodobnost setrvání v remisi než u pacientů s nedetekovatelnými minimálními koncentracemi. ^[11] Pravidelné sledování minimální koncentrace během udržovací fáze léčby je užitečné k optimalizaci dávkovacího režimu a zlepšení výsledků léčby. ^[12]

Doporučené cílové terapeutické okno minimální koncentrace pro test RIDASCREEN® IFX Monitoring je dle algoritmu TAXIT 3–7 µg/ml. ^[12]

Navíc se ukázalo, že u pacientů, kteří přestali na IFX odpovídat, je individuální úprava léčby na základě měření koncentrace IFX v séru užitečnější než empirická strategie, která využívá jiné možnosti léčby. ^[13]

Vzorky pacientů odebírané během zahajovací fáze léčby (obvykle ve 2. a 6. týdnu) mají typicky vyšší minimální koncentrace než vzorky pacientů odebírané během udržovací fáze léčby (12.–14. týden a dále). Proto je doporučováno používat u vzorků pacientů odebraných během zahajovací fáze léčby vyšší ředění.

Imunogenicitá

Sekundární ztráta odpovědi z důvodu vývoje protilátek proti léčivu je častá díky jeho imunogennímu charakteru. ^[14] V případě nedetekovatelných minimálních koncentrací může ke stanovení optimální strategie léčby pomoci následné měření protilátek proti léčivu.

K této analýze lze využít systém RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies (G09042) ELISA.

3. Princip testu

V testu RIDASCREEN® IFX Monitoring je využívána vysoce specifická monoklonální protilátka proti IFX (MA-IFX6B7, izolovaná a charakterizovaná na univerzitě KU Leuven) v metodě sendvičového typu.

Molekuly TNF α jsou aplikovány na povrch jamky mikrotitrační destičky. Naředěný vzorek séra nebo plazmy pacienta je napipetován do jamky mikrotitrační destičky a inkubován. Během tohoto kroku inkubace se IFX specificky naváže na TNF α na desce. Po promytí následuje druhý krok inkubace s MA-IFX6B7 konjugovanou s křenovou peroxidázou. Za přítomnosti IFX se vytvoří sendvičový komplex mezi imobilizovaným TNF α , IFX a konjugovanými protilátkami. Nepřichycené enzymem označené protilátky jsou odstraněny během navazujícího kroku promytí. V případě pozitivního výsledku testu bezbarvý roztok v mikrotitračních jamkách po přidání substrátu zmodrá. Ihned po přidání stop činidla se barva změní z modré na žlutou. Absorbance je přímo úměrná koncentraci IFX přítomného ve vzorku.

4. Dodávaná činidla

Jeden kit vystačí na 96 stanovení.

Plate	96 st.	Mikrotitrační destička, 12 mikrotitračních stripů (které mohou být odděleny) v držáku na stripy, potaženo lidským TNF α
Standard 1–6	1300 μ l	6 standardů; koncentrace standardů 1 až 6: 0 / 5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml; obsahuje 0,09% NaN ₃ ; připraveno k použití; kalibrováno podle mezinárodního standardu WHO pro Infliximab 16/170
Low Control +	1300 μ l	Nízkopozitivní kontrola; obsahuje 30 ng/ml IFX a 0,09% NaN ₃ ; připraveno k použití
Control +	1300 μ l	Pozitivní kontrola; obsahuje 70 ng/ml IFX a 0,09% NaN ₃ ; připraveno k použití
Diluent	100 ml	Roztok k ředění vzorků; obsahuje 0,09% NaN ₃ ; připraveno k použití; oranžově obarveno
Conjugate	12 ml	Konjugát; peroxidázou konjugovaná monoklonální protilátka (MA-IFX6B7); připraveno k použití; obarveno červeně
Substrate	12 ml	Substrát; peroxid vodíku / tetrametylbenzidin (TMB); připraveno k použití
Wash 20x	50 ml	Promývací roztok (20x konc.); roztok NaCl pufrovaný fosfátem; obsahuje detergent a antimikrobiální přípravky
Stop	6 ml	Stop činidlo; 0,5M H ₂ SO ₄ ; připraveno k použití
2 víka na destičky		

Informace o nebezpečných látkách jsou v souladu s požadavky značení. Podrobnosti uvádí bezpečnostní listy (SDS), které jsou k dispozici na stránkách www.r-biopharm.com.

5. Pokyny k uskladnění

Všechna činidla skladujte při teplotě 2–8 °C a používejte do data spotřeby vytištěného na příslušném štítku. Otevřené komponenty (činidla, mikrotitrační stripy) musí být do dalšího použití skladovány při teplotě 2–8 °C a lze je uchovávat po dobu 6 měsíců. Naředěný promývací roztok lze při skladování při teplotě 2–8 °C používat jeden měsíc. Je nutné, abyste zabránili mikrobiální kontaminaci. Po datu spotřeby již není platná záruka kvality. Otevřete hliníkový obal obsahující mikrotitrační stripy tak, abyste u toho neroztrhli těsnicí sponu. Veškeré nepotřebné mikrotitrační stripy neprodleně vraťte do hliníkového obalu a skladujte při teplotě 2–8 °C. Bezbarvý substrát chraňte také před přímým světlem, aby se nerozložil nebo nezmodral vlivem autooxidace. Jakmile substrát zmodrá, nelze jej dále používat.

6. Potřebná činidla, která nejsou součástí dodávky

6.1. Činidla

- Destilovaná nebo deionizovaná voda

6.2. Příslušenství

- Přesné mikropipety a standardní laboratorní pipety
- Odměrný válec (1000 ml)
- Čisté skleněné nebo plastové zkumavky k ředění vzorků
- Stopky
- Promývačka destiček nebo multikanálová pipeta (300 µl)
- Čtečka destiček (450 nm, referenční filtr 620–650 nm)
- Filtrační papír (laboratorní ubrousky)
- Nádoba na odpad obsahující 0,5% roztok chlornanu
- Inkubátor s teplotou 37 °C

7. Varování a bezpečnostní opatření pro uživatele

Pouze k diagnostickému použití *in vitro*.

Tento test smí provádět výhradně vyškolený laboratorní personál. Dodržujte pokyny pro práci ve zdravotnických laboratořích a přísně se držte pokynů k provádění testu.

Nemíchejte činidla nebo potahované mikrotitrační stripy z kitů s jinými čísly šarže.

Kontrolní séra z kitu (standard 1–6, nízkopozitivní kontrola, pozitivní kontrola) byla testována na protilátky proti HIV a HCV a antigen HBs a byla shledána negativními.

Nicméně s nimi zacházejte jako s potenciálně infekčními a v souladu s národními bezpečnostními nařízeními, stejně jako se vzorky pacientů a všemi materiály, které s nimi přijdou do styku.

Vzorky ani činidla nepipetujte ústy a zabraňte jejich kontaktu s poraněnou kůží a sliznicemi. Při práci se vzorky mějte nasazené rukavice a po dokončení testu si umyjte ruce. Nekuřte, nejezte ani nepijte v oblastech, kde se používají vzorky nebo činidla testu.

Stop činidlo obsahuje 0,5M kyselinu sírovou. Zabraňte kontaktu s kůží a oděvem. Pokud je kůže kontaminována činidlem, opláchněte ji vodou.

Činidla obsahují NaN_3 jako konzervační přípravek. Tato látka nesmí přijít do kontaktu s pokožkou ani sliznicemi.

Substrát obsahuje peroxid vodíku.

8. Odběr a uskladnění vzorků

V tomto testu lze použít vzorky plazmy s EDTA, vzorky plazmy s citrátem a vzorky séra.

Po odběru musí být ze séra co nejdříve oddělena sraženina, aby se zabránilo hemolýze.

Přeneste sérum do čisté skladovací zkumavky.

Vzorky lze skladovat při teplotě 2–8 °C po dobu alespoň 3–4 dní nebo při teplotě -20 °C po dobu alespoň jednoho roku. Je nutné předcházet opakovanému zmrazování a rozmrazování. Vzorky musí být naředěny v pufru k ředění vzorku (viz 9.3.1.).

Naředěné vzorky lze skladovat po dobu alespoň 8 hodin při pokojové teplotě.

9. Průběh testu

9.1. Obecné informace

Všechna činidla a mikrotitrační destička **Plate** musí před použitím nabýt pokojové teploty (20–25 °C). Mikrotitrační stripy se nesmí vyjmout z hliníkového obalu, dokud nedosáhnou pokojové teploty. Činidla před použitím důkladně promíchejte. Po otevření skladujte nepoužité mikrotitrační stripy (v utěsněném obalu) a činidla při teplotě 2–8 °C. Použité mikrotitrační stripy nelze znovu použít. Nepoužívejte činidla ani mikrotitrační stripy, pokud je balení poškozené nebo lahvičky protékají. Zabraňte přímému kontaktu vzorků se složkami kitu, abyste předešli zkřížené kontaminaci. Test nesmíte provádět na přímém slunečním světle. Během inkubace doporučujeme, abyste mikrotitrační destičku přikryli nebo přes ni umístili film, a zabránili tak ztrátám odpařováním.

Chcete-li získat další pokyny, jak provést test s přístroji ELISA, kontaktujte společnost R-Biopharm AG nebo svého místního distributora.

9.2. Příprava promývacího roztoku

Smíchejte 1 díl koncentráту promývacího roztoku **Wash | 20x** s 19 díly destilované vody (1 : 20). Nalijte 50 ml koncentráту do 1000ml odměrného válce a destilovanou vodou dolijte do 1000 ml. Připravený roztok lze skladovat alespoň 1 měsíc při teplotě 2–8 °C. Při vyšších teplotách se koncentrovaný promývací roztok může jevit zakalený, aniž by to ovlivnilo jeho funkci. Po naředění bude roztok čirý.

9.3. Příprava vzorků

Sérum nebo vzorky plazmy lze skladovat při teplotě 2–8 °C po dobu 3–4 dní nebo při teplotě -20 °C po dobu alespoň jednoho roku (také viz kapitola 8). Je nutné předcházet opakovanému zmrazování a rozmrazování. Vzorky musí být naředěny v pufru k ředění vzorku (viz 9.3.1.).

Naředěné vzorky lze skladovat po dobu alespoň 8 hodin při pokojové teplotě.

9.3.1. Ředění vzorku

a) Měření minimálních koncentrací během udržovací fáze léčby

K měření minimální koncentrace (koncentrace léčiva v okamžiku před podáním další dávky) během udržovací fáze léčby (od 12.–14. týdne a dále) jsou vzorky naředěny 1 : 100:

10 µl vzorku je naředěno v 990 µl roztoku k ředění vzorků **Diluent** (1 : 100).

V testu poté použijete 100 µl tohoto konečného naředěného vzorku.

Pokud je vzorek naředěný 1 : 100, lze stanovit koncentrace IFX mezi 0,5 a 12 µg/ml.

b) Měření minimálních koncentrací během zahajovací fáze léčby

K měření minimálních koncentrací během zahajovací léčby (typicky mezi 2. a 6. týdnem), k měření středních koncentrací léčiv nebo koncentrací > 12,0 µg/ml jsou vzorky naředěny 1 : 400: 10 µl vzorku je naředěno v 390 µl roztoku k ředění vzorků [Diluent] (1 : 40), následně je 100 µl tohoto roztoku naředěno v 900 µl [Diluent] (1 : 10). V testu poté použijete 100 µl tohoto konečného naředěného vzorku.

Pokud je vzorek naředěný 1 : 400, lze stanovit koncentrace IFX mezi 2,0 a 48 µg/ml.

9.4. První inkubace

Po umístění dostatečného množství jamek do držáku přidejte do příslušných jamek 100 µl standardů 1–6 ([Standard | 1] až [Standard | 6]), pozitivní kontrolu [Control | +], nízkopozitivní kontrolu [Low control | +] a vzorky. Přestože může být doporučeno provést běh s kalibrátory, kontrolami a vzorky v duplikátech, je spolehlivých výsledků dosaženo i při provedení analýzy s jedním kusem od každého z nich. Poté přikrytou mikrotitrační destičku inkubujte 1 hodinu při teplotě 37 °C.

9.5. První promývání

Aby bylo dosaženo správného vyhodnocení, je důležité pečlivé promývání, které má být provedeno v přísném souladu s pokyny. Inkubovaná látka v jamkách musí být vyprázdněna do nádoby na odpad obsahující roztok chlornanu k dezinfekci. Energicky vyklepněte obrácenou destičku proti sacímu papíru, abyste se ujistili, že je tekutina z jamek zcela odstraněna. Potom 5x promyjte destičku, pokaždé pomocí 300 µl naředěného promývacího roztoku (viz 9.2). Energicky vyklepněte obrácenou destičku proti sacímu papíru, abyste se ujistili, že je tekutina z jamek zcela odstraněna. Při použití promývačky destiček se ujistěte, že je přístroj správně nastaven dle typu používané mikrotitrační destičky. Také se ujistěte, že byla během každé fáze promývání odsáta veškerá tekutina. Po posledním promývání obrácenou destičku energicky vyklepněte proti sacímu papíru, abyste se ujistili, že je tekutina z jamek zcela odstraněna.

9.6. Druhá inkubace

Do každé jamky přidejte 100 µl konjugátu [Conjugate]. Poté přikrytou mikrotitrační destičku inkubujte 30 minut při teplotě 37 °C.

9.7. Druhé promývání

Inkubovaná substance v jamkách musí být vyprázdněna do nádoby na odpad obsahující roztok chlornanu k dezinfekci. Energicky vyklepněte obrácenou destičku proti sacímu papíru, abyste se ujistili, že je tekutina z jamek zcela odstraněna.

Potom 5x promyjte destičku, pokaždé pomocí 300 µl naředěného promývacího roztoku. Energicky vyklepněte obrácenou destičku proti sacímu papíru, abyste se ujistili, že je tekutina z jamek zcela odstraněna.

9.8. Třetí inkubace

Do každé jamky přidejte 100 µl substrátu [Substrate]. Poté destičku inkubujte 10 minut ve tmě při teplotě 37 °C. Potom reakci zastavte přidáním 50 µl stop činidla [Stop] do každé jamky.

Po opatrném promíchání (lehkým poklepáváním na bok destičky) změřte ve čtečce destiček absorbanční při 450 nm (referenční filtr 620 nm).

10. Kontrola kvality – známky nestability nebo zkažení činidel

Za účelem kontroly kvality musí být pokaždé při provádění testu použit standard 1 až standard 6 [Standard | 1] – [Standard | 6], pozitivní kontrola [Control | +] a nízkopozitivní kontrola [Low control | +] (vše doporučeno v duplikátech), abyste se ujistili o stabilitě činidel a správném průběhu.

Zpracování bude platné, pokud budou pokaždé splněny následující specifikace:

Hodnota OD standardu 1 [Standard | 1] < 0,080

Hodnota OD standardu 6 [Standard | 6] > 1,400

a) Pokud je použit faktor ředění 1 : 100 (udržovací fáze léčby):

Koncentrace nízkopozitivní kontroly [Low Control | +]:

3 µg/ml, rozmezí 2–4 µg/ml

Koncentrace pozitivní kontroly [Control | +]:

7 µg/ml, rozmezí 5–10 µg/ml

b) Pokud je použit faktor ředění 1 : 400 (zahajovací fáze léčby):

Koncentrace nízkopozitivní kontroly [Low Control | +]:

12 µg/ml, rozmezí 8–16 µg/ml

Koncentrace pozitivní kontroly [Control | +]:

28 µg/ml, rozmezí 20–40 µg/ml

Pro výpočet koncentrace IFX v kontrolách musí být použit stejný násobek jako u vzorků (viz **Kapitola 11. Hodnocení a interpretace**). Koncentrace je vyjádřena v µg/ml.

Příklad výpočtu pro faktor ředění 1 : 100:

60 ng/ml x 100 (faktor ředění) = 6 µg/ml

Pokud se hodnoty liší od těch požadovaných a substrát je zakalený nebo zmodral před přidáním do jamek, může to znamenat, že činidla expirovala. Pokud nejsou dosaženy stanovené hodnoty, musí být před opakováním testu zkontrolovány následující body:

- datum spotřeby použitých činidel;
- funkčnost použitého vybavení (např. kalibrace);
- správný průběh testu;
- vizuální kontrola kontaminace nebo úniku součástí kitu – roztok substrátu, který zmodral, se už nesmí použít.

V případě vysokého signálu pozadí (OD standardu 1 > 0,08) nebylo promývání dostatečné. Opakujte test s usilovnějším promýváním (zvýšený počet cyklů, čas namočení).

Pokud nejsou podmínky po zopakování testu stále dosaženy, kontaktujte výrobce nebo svého místního distributora společnosti R-Biopharm.

11. Hodnocení a interpretace

K analýze výsledků je vyžadován software RIDA®SOFT Win.net. Software RIDA®SOFT Win.NET nebo aktualizace jsou dostupné na vyžádání u společnosti R-Biopharm AG nebo vašeho místního distributora společnosti R-Biopharm.

Jako alternativu softwaru RIDA®SOFT Win.NET lze použít také nějaký jiný vyhodnocovací software, který poskytuje 4parametrový logistický protokolovací model.

Hodnocení testu RIDASCREEN® IFX Monitoring je dosaženo pomocí standardní křivky, která musí být vytvořena vždy při provádění testu.

V konečné kontrole kvality určila společnost R-Biopharm AG pro každou šarži kitu cílové hodnoty a povolené rozmezí koncentrace pro pozitivní kontrolu a nízkopozitivní kontrolu v ideálních podmínkách testu.

Při výpočtu koncentrace IFX ve vzorcích pacienta se musí brát do úvahy faktor ředění, kdy se naměřená koncentrace tímto faktorem ředění vynásobí.

Příklad: Výsledek vzorku naředěného 1 : 100 získaný interpolací z kalibrační křivky je 60 ng/ml. Odpovídající koncentrace IFX v nenaředěném vzorku je tedy 6 µg/ml.

Příklad: Výsledek vzorku naředěného 1 : 400 získaný interpolací z kalibrační křivky je 60 ng/ml. Odpovídající koncentrace IFX v nenaředěném vzorku je tedy 24 µg/ml.

Pokud používáte software RIDA®SOFT Win.Net, je při použití vhodné metody faktor ředění aplikován automaticky:

Pro ředění 1 : 100 vyberte: RIDA®SOFT Win.net method IFX100.met.

Pro ředění 1 : 400 vyberte: RIDA®SOFT Win.net method IFX400.met.

Koncentrace se uvádí v µg/ml.

12. Omezení metody

Test RIDASCREEN® IFX Monitoring detekuje volnou funkčně aktivní část IxF a ne část IxF, která je vázána na protilátky proti infliximabu díky imunogenicitě.

Jednotlivé koncentrace infliximabu naměřené pomocí testu RIDASCREEN® IFX Monitoring nelze použít jako jediný indikátor ke změně režimu léčby a každý pacient musí být před změnami režimu léčby pečlivě klinicky zhodnocen.

Během udržovací fáze léčby je doporučeno terapeutické okno cílové minimální koncentrace 3–7 µg/ml. ^[12] Přesto se mohou prahové koncentrace spojené s remisí u různých pacientů lišit kvůli intra- a interindividuální variabilitě ve farmakokinetice a farmakodynamice. Navíc se ukázalo, že vyšší minimální koncentrace je spojena s odpovědí a remisí u pacientů se specifickým fenotypem onemocnění, jako jsou pacienti s perianálním onemocněním, nebo při cílení na endoskopické hojení. ^[15,16]

13. Provozní charakteristiky

13.1. Příklad typických hodnot optické density (OD)

Standard	OD
1	0,007
2	0,104
3	0,212
4	0,453
5	1,357
6	2,508

13.2. Přesnost

13.2.1. Přesnost uvnitř testu

Přesnost uvnitř testu byla stanovena v jednom běhu pomocí 4 referencí, z nichž každá byla ve 21 replikátech. Z hodnot OD těchto měření byly stanoveny koncentrace IFX. U každého vzorku byla vypočítána střední hodnota, směrodatná odchylka (SD) a variační koeficient (CV). Výsledky jsou uvedeny v tabulce níže.

Reference	1	2	3	4
Střed (µg/ml)	0,61	1,12	3,2	7,67
SD	0,04	0,05	0,15	0,51
% CV	6,6	4,6	4,7	6,8

13.2.2. Přesnost v rámci testů

Přesnost v rámci testů byla stanovena v 5 bězích za použití 4 referencí. Z hodnot OD těchto měření byly stanoveny koncentrace IFX. U každého vzorku byla vypočítána střední hodnota, směrodatná odchylka (SD) a variační koeficient (CV). Výsledky jsou uvedeny v tabulce níže.

Reference	1	2	3	4
Střed (µg/ml)	0,77	1,58	4,17	9,82
SD	0,04	0,09	0,16	0,94
% CV	5,4	5,4	3,7	9,6

13.3. Specificita

13.3.1. Normální lidské sérum/plazma

Specificita byla stanovena testováním 72 dárcovských vzorků neléčených pacientů belgického původu. Žádný ze vzorků neukazoval detekovatelnou koncentraci IFX, což znamená specificitu 100 %.

13.3.2. Interference

Byl testován panel 30 potenciálně interferujících vzorků zahrnující vzorky HAMA pozitivní, lipemické, s vysokým bilirubinem, s vysokým cholesterolem, hemolyzované a vzorky žen v prvním trimestru těhotenství. Nebyla pozorována žádná interakce se zkoumanými faktory.

13.3.3. Zkřížená reaktivita

Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita s následujícími biologickými léčivy používanými k léčbě autoimunitních onemocnění: adalimumab a golimumab.

13.4. Analytická senzitivita

Ke stanovení analytické senzitivity byla připravena sériová ředění standardu 2 (5 ng/ml) a testována se dvěma kontrolními vzorky. Limit detekce byl stanoven jako < 1 ng/ml. V případě faktoru ředění 1 : 100 to odpovídá 0,1 µg/ml.

13.5. Obnova

U 17 IFX negativních vzorků byl vytvořen prudký nárůst s různými koncentracemi IFX. Na základě OD z tohoto měření byla za použití standardní křivky stanovena koncentrace IFX byla vypočítána obnova. Střední hodnota obnovy je 103,5 %.

Vzorek	Očekávaná hodnota (µg/ml)	Pozorovaná hodnota (µg/ml)	Obnova %
1	0,25	0,285	114,0
2	0,5	0,5	100,0
3	1	0,95	95,0
4	2	1,95	97,5
5	3	3,18	106,0
6	3,5	3,53	100,9
7	4	3,88	97,0
8	4,5	4,74	105,3
9	5	5,34	106,8
10	5,5	6,07	110,4
11	6	6,57	109,5
12	7	7,73	110,4
13	8	8,42	105,3
14	9	8,86	98,4
15	10	10,29	102,9
16	11	11,26	102,4
17	12	11,68	97,3
Střed			103,5

13.6. Korelace s referenčním testem










Pomocí testu RIDASCREEN® IFX Monitoring byly analyzovány dva klinické panely vzorků s počty vzorků 102 a 30 a výsledky byly srovnány s těmi z referenční analýzy (IFX ELISA vyvinutá na univerzitě KU Leuven). U těchto dvou panelů vzorků byly stanoveny korelační koeficienty 0,95 a 0,97.

14. Historie verze

Číslo verze	Kapitola a popis
2019-11-14	4. Dodávaná činidla 9.4 První inkubace

15. Vysvětlení symbolů

Všeobecné symboly

	K diagnostickému použití <i>in vitro</i>
	Prostudujte si návod k použití
	Číslo šarže
	Použitelný do
	Skladovací teplota
	Číslo výrobku
	Počet testů
	Datum výroby
	Výrobce

Symboly specifické pro test

Plate	Mikrotitrační destička
Standard 1–6	Standard 1–6
Low Control +	Nízkopozitivní kontrola
Control +	Pozitivní kontrola
Diluent	Roztok k ředění vzorků
Conjugate	Conjugate
Substrate	Substrate
Wash 20x	Promývací roztok (20x konc.)
Stop	Stop činidlo

16. Literatura

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. Vermeire S, Gils A. Value of drug level testing and antibody assays in optimising biological therapy. *Frontline Gastroenterol* 2013;4:41-43.
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. Mulleman D, MERIC JC, Paintaud G, et al. Infliximab concentration monitoring improves the control of disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2009;11:R178.
6. Van Stappen T, Brouwers E, Tops S, et al. Generation of a highly specific monoclonal antibody standard for harmonization of TNF-coated infliximab assays. *Ther Drug Monit* 2015;37:479-485.
7. Gils A, Van Stappen T, Dreesen E, et al. Harmonization of Infliximab and Anti-Infliximab Assays Facilitates the Comparison Between Originators and Biosimilars in Clinical Samples. *Inflamm Bowel Dis.* 2016;22:969-975.

8. Cornillie F, Hanauer SB, Diamond RH, et al. Postinduction serum infliximab trough level and decrease of C-reactive protein level are associated with durable sustained response to infliximab: a retrospective analysis of the ACCENT I trial. *Gut* 2014;63:1721-1727.
9. Vande Casteele N, Ballet V, Van Assche G, et al. Early serial trough and antidrug antibody level measurements predict clinical outcome of infliximab and adalimumab treatment. *Gut* 2012;321; author reply 322.
10. Van Stappen T, Bollen L, Vande Casteele N, et al. Rapid test for infliximab drug concentration allows immediate dose adaptation. *Clin Transl Gastroenterol* 2016;7:e206.
11. Maser EA, Villela R, Silverberg MS, et al. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1248-1254.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Yarur AJ, Kanagala V, Stein DJ, et al. Higher infliximab trough levels are associated with perianal fistula healing in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;45:933-940.
16. Ungar B, Levy I, Yavne Y, et al. Optimizing anti-TNF- α therapy: Serum levels of infliximab and adalimumab associate with mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:550–557.