

## RIDASCREEN® IFX Monitoring

**REF** G09041



## 1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® IFX Monitoring es un inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de infliximab (IFX, Remicade®) en suero y plasma humanos.

## 2. Resumen y descripción del ensayo

### Monitorización terapéutica de fármacos

Infliximab (IFX) es un anticuerpo monoclonal terapéutico quimérico dirigido contra la citocina proinflamatoria TNF $\alpha$ . La introducción de infliximab ha revolucionado el tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas, como la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la artritis reumatoide (AR) y la espondiloartritis. Se ha demostrado que infliximab puede inducir una remisión profunda y mejorar la calidad de vida del paciente. [1] Algunos pacientes no responden al tratamiento con IFX en la fase de inducción (no respondedores primarios), mientras que otros dejan de responder con el tiempo (no respondedores secundarios). [2]

Un fármaco únicamente puede ejercer su efecto farmacológico cuando se alcanzan concentraciones adecuadas en la circulación. La concentración en suero de infliximab justo antes de la siguiente infusión, definida como la concentración mínima, se ha usado para la monitorización terapéutica de fármacos (MTF). Datos recientes relativos a la MTF han demostrado que se asocia una buena respuesta clínica a concentraciones mínimas adecuadas en pacientes de EII [3] y AR [4, 5]. La MTF puede, por lo tanto, ser altamente instrumental para la optimización del tratamiento y para superar la pérdida de respuesta secundaria.

RIDASCREEN® IFX Monitoring utiliza un anticuerpo monoclonal altamente específico (MA-IFX6B7), aislado y caracterizado en la Universidad Católica de Lovaina (Bélgica). [6] Detecta únicamente infliximab; se ha demostrado que otros fármacos anti-TNF como adalimumab o golimumab no interfieren con la medición. [6] Los biosimilares de infliximab (Remsima®, Inflectra® y Flixabi®) están igualmente bien cuantificados en el RIDASCREEN® IFX Monitoring. [7]

### Enfermedad inflamatoria intestinal

Se describe a continuación el valor diagnóstico de la MTF en pacientes con EII, tanto en la fase de inducción como en la de mantenimiento del tratamiento.

Fase de inducción del tratamiento: Se ha demostrado que una concentración mínima de IFX durante el tratamiento post-inducción se asocia con una respuesta clínica sostenida. [8, 9] La medición de la concentración mínima de infliximab durante la fase de inducción del tratamiento, o poco después de ella, puede ayudar a identificar pacientes que reciben una dosis insuficiente y a optimizar la dosis individual. [10]

Fase de mantenimiento del tratamiento: Se ha demostrado que los pacientes en tratamiento de mantenimiento con una concentración mínima sostenida de infliximab, tienen más probabilidades de permanecer en remisión que los pacientes

con concentraciones mínimas no detectables. <sup>[11]</sup> La monitorización regular de la concentración mínima durante la fase de mantenimiento del tratamiento es útil para optimizar el régimen de administración y mejorar los resultados del tratamiento. <sup>[12]</sup> Para RIDASCREEN® IFX Monitoring, se recomienda un intervalo de concentraciones terapéuticas mínimas diana de 3 a 7 µg/ml, según el algoritmo TAXIT. <sup>[12]</sup>

Además, se demostró que, en el caso de pacientes que habían dejado de responder a IFX, resulta más útil ajustar el tratamiento de forma individual basándose en mediciones de IFX en suero, que una estrategia empírica que recurra a otras opciones de tratamiento. <sup>[13]</sup>

Las muestras de pacientes extraídas durante la fase de inducción del tratamiento (generalmente en las semanas 2 y 6) suelen tener concentraciones mínimas más altas que las muestras de pacientes extraídas durante la fase de mantenimiento del tratamiento (semanas 12 a 14 en adelante). Por lo tanto, se recomienda usar una mayor dilución para las muestras de pacientes extraídas durante la fase de inducción del tratamiento.

### **Inmunogenicidad**

La pérdida secundaria de respuesta suele deberse a la aparición de anticuerpos antifármaco, debido al carácter inmunogénico del fármaco. <sup>[14]</sup> En caso de que las concentraciones mínimas sean indetectables, la determinación posterior de anticuerpos antifármaco puede ser útil para determinar la estrategia de tratamiento óptima. Para este ensayo puede utilizarse el ensayo de ELISA RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies (G09042).

### **3. Principio del ensayo**

En RIDASCREEN® IFX Monitoring, se utiliza un anticuerpo monoclonal altamente específico contra IFX (MA-IFX6B7, aislado y caracterizado en la Universidad Católica de Lovaina) en un método tipo sándwich.

Se aplican moléculas de TNF $\alpha$  a la superficie de los micropocillos de la placa. Se pipetea una dilución de la muestra de suero o plasma del paciente en los micropocillos de la placa y se incuba. Durante este paso de incubación, el IFX se une específicamente al TNF $\alpha$  en la placa. Tras el lavado, se realiza un segundo paso de incubación junto con MA-IFX6B7, que se conjuga con peroxidasa de rábano picante. En presencia de IFX, se forma un complejo sándwich entre TNF $\alpha$  inmovilizado, IFX y anticuerpos conjugados. Los anticuerpos marcados con enzima no unidos se eliminan durante una etapa siguiente de lavado. Tras añadir el sustrato, la solución incolora en la placa de micropocillos se tornará azul si el resultado del ensayo es positivo. Al añadir el reactivo de parada, el color cambia de azul a amarillo. La capacidad de absorción es proporcional a la concentración de IFX presente en la muestra.

#### 4. Reactivos suministrados

Un kit es suficiente para 96 determinaciones.

Plate	96 determinaciones	Placa de microtitulación, 12 tiras de micropocillos (divisibles) en el portatiras; recubiertas con TNF $\alpha$ humano
Standard 1-6	1300 $\mu$ l	6 estándares; concentraciones de los estándares 1 a 6: 0 / 5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml; contiene NaN <sub>3</sub> al 0,09 %; listo para usar; calibrado con el estándar internacional de la OMS para infliximab 16/170
Low Control  +	1300 $\mu$ l	Control positivo bajo; contiene 30 ng/ml de IFX y NaN <sub>3</sub> al 0,09 %; listo para usar.
Control  +	1300 $\mu$ l	Control positivo; contiene 70 ng/ml de IFX y NaN <sub>3</sub> al 0,09 %; listo para su uso.
Diluent	100 ml	Búfer de dilución de muestras; contiene NaN <sub>3</sub> al 0,09 %; listo para usar; color naranja.
Conjugate	12 ml	Conjugado; anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa (MA-IFX6B7); listo para usar; color rojo.
Substrate	12 ml	Substrato; peróxido de hidrógeno / tetrametilbenzidina (TMB); listo para usar.
Wash   20x	50 ml	Solución amortiguadora de lavado (concentración 20x); solución salina amortiguada con fosfato; contiene agentes detergentes y antimicrobianos.
Stop	6 ml	Reactivo de parada; 0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; listo para su uso.
2 cubiertas (covers) de placas		

La información sobre sustancias peligrosas cumple con los requisitos del etiquetado. Para obtener información más detallada, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Los componentes abiertos (reactivos, tiras de micropocillos) deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C hasta el próximo uso y pueden conservarse durante 6 meses. La solución amortiguadora de lavado diluida puede usarse durante un mes si se almacena entre 2 °C y 8 °C. Debe evitarse la

contaminación microbiana. Una vez alcanzada la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.

Debe abrirse la bolsa de aluminio que contiene las tiras de micropocillos sin que se rompa el precinto de seguridad. Cualquier tira de micropocillos que no vaya a utilizarse deberá retornarse inmediatamente a la bolsa de aluminio y almacenarse entre 2 °C y 8 °C.

El sustrato incoloro debe protegerse también de la luz directa para evitar que se descomponga o se vuelva azul debido a la autooxidación. No utilice el sustrato si ha virado a color azul.

## **6. Reactivos necesarios no suministrados**

### **6.1. Reactivos**

- Agua destilada o desionizada

### **6.2. Accesorios**

- Micropipetas de precisión y pipetas estándar de laboratorio
- Probeta graduada (1,000 ml)
- Tubos de vidrio o plástico limpios para la dilución de las muestras
- Cronómetro
- Equipo de limpieza de microplacas o pipetas multicanal (300 µl)
- Lector de microplacas (450 nm, filtro de referencia 620 nm)
- Papel de filtro (toallas desechables)
- Recipiente para residuos con solución de hipoclorito al 0.5 %
- Incubadora 37 °C

## **7. Advertencias y precauciones para los usuarios**

Exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.

Este ensayo solo debe llevarlo a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben seguirse estrictamente las directrices para el trabajo en laboratorios médicos y las instrucciones para la realización del ensayo.

No mezcle reactivos o tiras de microtitulación recubiertas procedentes de kits con números de lote diferentes.

Los sueros de control del kit (estándar 1 a 6, control positivo bajo, control positivo) se analizaron para detectar la presencia de anticuerpos del VIH y del VHC, así como del antígeno de superficie de la hepatitis B, con resultado negativo. No obstante, deberán tratarse como potencialmente infecciosos y manipularse conforme a las regulaciones de seguridad nacionales, al igual que las muestras del paciente y todos los materiales que hayan estado en contacto con ellas.

No pipetee las muestras ni los reactivos con la boca y evite el contacto con lesiones de la piel y mucosas. Utilice guantes desechables para manipular las muestras y lávese las manos al terminar el ensayo. No fume, coma ni beba en las áreas en las que se usen las muestras o los reactivos del ensayo.

El reactivo de parada contiene 0.5 M de ácido sulfúrico. Evite el contacto con la piel y la ropa. Si se contamina la piel con el reactivo, enjuáguela con agua.

Los reactivos contienen  $\text{NaN}_3$  como conservador. Se debe impedir que esta sustancia entre en contacto con la piel o las membranas mucosas.

El sustrato contiene peróxido de hidrógeno.

## **8. Obtención y almacenamiento de muestras**

En este ensayo pueden usarse muestras de plasma con EDTA, muestras de plasma citratado y muestras de suero. Tras la obtención de las muestras, se debe separar el suero del coágulo lo antes posible para evitar la hemólisis. Transfiera el suero a un tubo de almacenamiento limpio.

Las muestras pueden almacenarse a una temperatura de 2 °C a 8 °C durante al menos 3 a 4 días o a - 20 °C durante un año como mínimo. Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación y descongelación. Las muestras deben diluirse con solución amortiguadora para dilución de muestras (ver 9.3.1.).

Las muestras diluidas pueden almacenarse durante un máximo de 8 horas a temperatura ambiente.

## **9. Ejecución del ensayo**

### **9.1. Información general**

Todos los reactivos y la placa de microtitulación Plate deben llevarse a la temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) antes del uso. No saque las tiras de micropocillos de la bolsa de aluminio hasta que hayan alcanzado la temperatura ambiente. Los reactivos deben mezclarse bien inmediatamente antes de su uso. Después de abiertos, las tiras de micropocillos (en bolsas selladas) y los reactivos sin utilizar deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C. Una vez usadas, las tiras de micropocillos no se pueden usar de nuevo. No utilice los reactivos ni las tiras de micropocillos si el envase está dañado o los viales tienen pérdidas. Para evitar la contaminación cruzada, las muestras no deben entrar en contacto directo con los componentes del kit. No realice el ensayo bajo la luz solar directa. Durante la incubación, recomendamos cubrir la placa de micropocillos o colocar encima una película plástica para evitar pérdidas por evaporación.

Para obtener las instrucciones sobre cómo realizar el ensayo con instrumentos para ELISA, póngase en contacto con R-Biopharm AG o con su distribuidor local.

## 9.2. Preparación de la solución amortiguadora de lavado

Mezcle 1 parte de solución amortiguadora de lavado concentrada **Wash | 20x** con 19 partes de agua destilada (1:20). Vierta 50 ml de concentrado en una probeta de 1,000 ml y complete el resto con agua destilada. La solución reconstituida puede almacenarse durante al menos 1 mes entre 2 °C y 8 °C. A temperaturas superiores, la solución de lavado concentrada puede parecer turbia sin que ello afecte a sus resultados. Con la dilución, la solución se tornará transparente.

## 9.3. Preparación de las muestras

Las muestras de suero o plasma pueden almacenarse entre 2 °C y 8 °C durante 3 a 4 días o a - 20 °C durante un año como mínimo (ver también el capítulo 8). Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación y descongelación. Las muestras deben diluirse con solución amortiguadora para dilución de muestras (ver 9.3.1.). Las muestras diluidas pueden almacenarse durante un máximo de 8 horas a temperatura ambiente.

### 9.3.1. Dilución de las muestras

#### a) Medición de las concentraciones mínima durante la fase de mantenimiento del tratamiento

Para medir la concentración mínima (concentración del fármaco inmediatamente antes de la siguiente dosis) durante la fase de mantenimiento del tratamiento (desde la semana 12 a 14 en adelante), las muestras se diluyen 1:100:

10 µl de la muestra se diluyen en 990 µl de la solución amortiguadora para dilución de muestras **Diluent** (1:100).

100 µl de esta muestra diluida final se usan a continuación en el ensayo.

Si la muestra se diluye 1:100, pueden determinarse concentraciones de IFX entre 0.5 y 12 µg/ml.

#### b) Medición de las concentraciones mínimas durante la fase de inducción del tratamiento

Para medir las concentraciones mínimas durante el tratamiento de inducción (por lo general en la semana 2 y la semana 6) o para medir las concentraciones intermedias de fármacos, o las concentraciones > 12.0 µg/ml, las muestras se diluyen 1:400:

10 µl de la muestra se diluyen en 390 µl de la solución amortiguadora para dilución de muestras **Diluent** (1:40) y, a continuación, 100 µl de esta solución se diluyen en 900 µl de **Diluent** (1:10).

100 µl de esta muestra diluida final se usan a continuación en el ensayo.

Si la muestra se diluye 1:400, pueden determinarse concentraciones de IFX entre 2.0 y 48 µg/ml.

#### 9.4. Primera incubación

Tras colocar un número suficiente de pocillos en el soporte, añada 100 µl de los estándares 1-6 (Standard | 1 a Standard | 6), el control positivo (Control | +), el control positivo bajo (Low control | +) y las muestras a los pocillos correspondientes. Aunque se puede recomendar que se analicen calibradores, controles y muestras por duplicado, se obtienen resultados igualmente confiables si el análisis se realiza con un solo tanto.

A continuación, incube la placa de microtitulación cubierta a 37 °C durante 1 hora.

#### 9.5. Primer lavado

Para obtener resultados correctos es fundamental realizar un lavado exhaustivo y, en consecuencia, deben respetarse rigurosamente las etapas de lavado especificadas en las instrucciones. Las sustancias incubadas en los pocillos deben vaciarse en un recipiente de residuos que contenga solución de hipoclorito para su desinfección. Golpee la placa (volteada) enérgicamente sobre papel absorbente para garantizar la eliminación completa del líquido en los micropocillos. A continuación, lave la placa cinco veces con 300 µl de solución amortiguadora de lavado diluida cada vez (ver 9.2). Golpee la placa (volteada) enérgicamente sobre papel absorbente para garantizar la eliminación completa del líquido en los micropocillos. Si utiliza un equipo de limpieza de microplacas, asegúrese de que la máquina esté ajustada correctamente al tipo de placa de micropocillos utilizada. Compruebe asimismo que se haya aspirado completamente el líquido en cada fase de lavado. Tras el último lavado, golpee la placa (volteada) enérgicamente sobre papel absorbente para garantizar la total eliminación de líquido en los micropocillos.

#### 9.6. Segunda incubación

Añada 100 µl de conjugado (Conjugate) a cada pocillo. A continuación, incube la placa cubierta de microtitulación a 37 °C durante 30 minutos.

#### 9.7. Segundo lavado

Las sustancias incubadas en los pocillos deben vaciarse en un recipiente de residuos que contenga solución de hipoclorito para su desinfección. Golpee la placa (volteada) enérgicamente sobre papel absorbente para garantizar la eliminación completa del líquido en los micropocillos.

A continuación, lave la placa cinco veces con 300 µl de solución amortiguadora de lavado diluida cada vez. Golpee la placa (volteada) enérgicamente sobre papel absorbente para garantizar la eliminación completa del líquido en los micropocillos.

#### 9.8. Tercera incubación

Añada 100 µl de sustrato (Substrate) a cada pocillo. A continuación, incube la placa a 37°C, a oscuras, durante 10 minutos. Después, frene la reacción añadiendo 50 µl de reactivo de parada (Stop) en cada pocillo.



Tras mezclar con cuidado (golpeando ligeramente en el lado de la placa), mida la capacidad de absorción a 450 nm (filtro de referencia de 620 nm) en un lector de placas.

## 10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

Con fines de control de calidad, los estándares del 1 al 6 **Standard | 1** – **Standard | 6**, el control positivo **Control | +** y el control positivo bajo **Low control | +** (se recomienda cada uno por duplicado) deben usarse siempre que se realice el ensayo para garantizar la estabilidad de los reactivos y que el procedimiento sea el correcto.

Deberán cumplirse las siguientes especificaciones durante cada ensayo para que este sea válido:

Valor de la DO del estándar 1 **Standard | 1** < 0.080

Valor de la DO del estándar 6 **Standard | 6** > 1.400

### a) Si se usa el factor de dilución de 1:100 (fase tratamiento de mantenimiento):

Concentración para el control positivo bajo **Low Control | +**:

3 µg/ml, rango 2 a 4 µg/ml

Concentración para el control positivo **Control | +**:

7 µg/ml, rango 5 a 10 µg/ml

### b) Si se usa el factor de dilución de 1:400 (fase de tratamiento de inducción):

Concentración para el control positivo bajo **Low Control | +**:

12 µg/ml, rango 8 a 16 µg/ml

Concentración para el control positivo **Control | +**:

28 µg/ml, rango 20 a 40 µg/ml

Para calcular la concentración de IFX en los controles, se debe usar el mismo factor de multiplicación que en las muestras (ver el **Capítulo 11. Evaluación e interpretación**). La concentración se expresa entonces en µg/ml.

Ejemplo de cálculo para el factor de dilución 1:100:

60 ng/ml x 100 (factor de dilución) = 6 µg/ml

Si los valores difieren de los requeridos, si el sustrato está turbio o se ha puesto azul antes de añadirlo a los pocillos, puede que los reactivos hayan caducado. Si no se cumplen los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Funcionamiento de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
- La ejecución correcta del ensayo
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas; no utilice soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Una señal de fondo alta (estándar de DO 1 > 0.08) indica que el lavado resultó insuficiente. Repita el ensayo con un lavado más enérgico (mayor número de ciclos, tiempo de remojo).

Si los requisitos siguen sin cumplirse después de repetir el ensayo, póngase en contacto con el fabricante o el distribuidor local de R-Biopharm.

## 11. Evaluación e interpretación

Para el análisis de los resultados se requiere RIDA®SOFT Win.net. El RIDA®SOFT Win.net (o una actualización) está disponible para quien lo solicite a R-Biopharm AG o a su distribuidor local de R-Biopharm.

En lugar de RIDA®SOFT Win.net puede utilizarse cualquier otro software que trabaje con el modelo logístico de cuatro parámetros.

El RIDASCREEN® IFX Monitoring puede evaluarse mediante una curva estándar que debe procesarse cada vez que se ejecute el ensayo.

En el control de calidad final, R-Biopharm AG ha determinado los valores objetivo y el rango de concentración admisible del control positivo y positivo bajo en condiciones de ensayo óptimas para cada lote del kit.

El factor de dilución debe tenerse en cuenta al calcular la concentración de IFX en las muestras de los pacientes, multiplicando la concentración medida por el factor de dilución.

Ejemplo: el resultado de una muestra diluida 1:100, obtenida mediante la interpolación desde la curva de calibración, es de 60 ng/ml. La correspondiente concentración de IFX en la muestra sin diluir es entonces de 6 µg/ml.

Ejemplo: el resultado de una muestra diluida 1:400, obtenida mediante la interpolación desde la curva de calibración, es de 60 ng/ml. La correspondiente concentración de IFX en la muestra sin diluir es entonces de 24 µg/ml.

Si se utiliza el software RIDA®SOFT Win.net, el factor de dilución se aplica automáticamente al utilizar el método apropiado:

Para la dilución 1:100 seleccione: RIDA®SOFT Win.net, método IFX100.et.

Para la dilución 1:400 seleccione: RIDA®SOFT Win.net, método IFX400.et.

La concentración se expresa en µg/ml.

## 12. Limitaciones del método

El ensayo RIDASCREEN® IFX Monitoring detecta la proporción de IFX libre funcionalmente activa y no la proporción de IFX unido a anticuerpos anti-infliximab debido a la inmunogenicidad.

Las concentraciones individuales de infliximab medidas con RIDASCREEN® IFX Monitoring no pueden usarse como único indicador para realizar cambios en un

régimen de tratamiento, y es necesario realizar una evaluación clínica completa del paciente antes de realizar cualquier cambio en su régimen de tratamiento.

Durante la fase de mantenimiento del tratamiento, se recomienda un intervalo de concentraciones terapéuticas mínimas diana de 3 a 7 µg/ml. <sup>[12]</sup> No obstante, las concentraciones umbral que se asocian con la remisión pueden variar de un paciente a otro, debido a la variabilidad intra e interindividual en la farmacocinética y la farmacodinámica. Además, se ha sugerido que las concentraciones mínimas más altas se asocian con respuesta y remisión en pacientes con fenotipos específicos de la enfermedad, como los pacientes con enfermedad perianal, o cuando el objetivo es la curación endoscópica. <sup>[15,16]</sup>

### 13. Características de rendimiento

#### 13.1. Ejemplo de valores típicos de la densidad óptica (DO)

Estándar	DO
1	0.007
2	0.104
3	0.212
4	0.453
5	1.357
6	2.508

#### 13.2. Precisión

##### 13.2.1. Precisión intraensayo

La reproducibilidad intraensayo se determinó en una sola corrida midiendo 21 réplicas de 4 referencias. Los valores de DO de estas medidas se utilizaron para determinar las concentraciones de IFX. Se calcularon el valor medio, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de cada muestra. Los resultados se indican en la tabla siguiente.

Referencia	1	2	3	4
Media (µg/ml)	0.61	1.12	3.2	7.67
DE	0.04	0.05	0.15	0.51
<b>% CV</b>	<b>6.6</b>	<b>4.6</b>	<b>4.7</b>	<b>6.8</b>

### 13.2.2. Precisión interensayo

La precisión interensayo se determinó en 5 corridas utilizando cuatro referencias. Los valores de DO de estas medidas se utilizaron para determinar las concentraciones de IFX. Se calcularon el valor medio, la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de cada muestra. Los resultados se indican en la tabla siguiente.

Referencia	1	2	3	4
Media (µg/ml)	0.77	1.58	4.17	9.82
DE	0.04	0.09	0.16	0.94
% CV	<b>5.4</b>	<b>5.4</b>	<b>3.7</b>	<b>9.6</b>

### 13.3. Especificidad

#### 13.3.1. Suero/plasma humano normal

La especificidad se determinó analizando 72 muestras de donantes de personas no tratadas de origen belga. Ninguna de las muestras mostró una concentración detectable de IFX, con un resultado de especificidad del 100 %.

#### 13.3.2. Interferencia

Se probó un grupo de 30 muestras potencialmente interferentes formado por muestras de HAMA positivas, lipémicas, de bilirrubina alta, de colesterol alto, hemolizadas y de mujeres embarazadas en el primer semestre. No se observó interacción con los factores investigados.

#### 13.3.3. Reactividad cruzada

No se ha observado reactividad cruzada para los siguientes biofármacos empleados en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias: adalimumab y golimumab.

### 13.4. Sensibilidad analítica

Para la determinación de la sensibilidad analítica se prepararon diluciones en serie de estándar 2 (5 ng/ml) y se sometieron a prueba junto con dos muestras de control. El límite de detección se determinó en < 1 ng/ml. Considerando un factor de dilución de 1:100, esto corresponde a 0.1 µg/ml.

### 13.5. Recuperación

Se adulteraron 17 muestras IFX negativas con concentraciones diferentes de IFX. Basándose en los valores de DO de esta medición, la concentración de IFX se determinó usando la curva estándar y la recuperación calculada. La recuperación media es de 103.5 %.

Muestra	Esperado (µg/ml)	Observado (µg/ml)	Recuperación %
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
<b>Media</b>			<b>103.5</b>

### 13.6. Correlación con el ensayo de referencia










Dos grupos de muestras clínicas con un número de 102 y 30 muestras respectivamente se analizaron usando RIDASCREEN® IFX Monitoring y se compararon los resultados con los de los ensayos de referencia (IFX ELISA desarrollado en la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica). Se determinaron coeficientes de correlación de 0.95 a 0.97 para los dos paneles de muestras.

## 14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y descripción
2019-11-14	4. Reactivos suministrados 9.4. Primera incubación

## 15. Explicación de los símbolos

### Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i> .
	Siga las instrucciones de uso.
	Número de lote
	Caducidad
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de ensayos
	Fecha de fabricación
	Fabricante

## Símbolos específicos del ensayo

Plate	Placa de microtitulación
Standard 1-6	Estándar 1 a 6
Low Control  +	Control positivo bajo
Control  +	Control positivo
Diluent	Solución amortiguadora para dilución de muestras
Conjugate	Conjugado
Substrate	Sustrato
Wash   20x	Solución amortiguadora de lavado (concentración 20x)
Stop	Reactivo de parada

## 16. Bibliografía

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, Vilella 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- $\alpha$  therapy: Serum levels of infliximab and adalimumab associate with mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:550–557.