

RIDASCREEN® IFX Monitoring

REF G09041



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDASCREEN® IFX Monitoring est un test immunoenzymatique destiné à la détermination quantitative d'infliximab (IFX, Remicade®) dans le sérum et le plasma humains.

2. Résumé et explication du test

Suivi thérapeutique pharmacologique

L'infliximab (IFX) est un anticorps monoclonal chimérique à usage thérapeutique qui cible la cytokine TNF α pro inflammatoire. L'adoption d'infliximab a révolutionné le traitement des maladies inflammatoires chroniques telles que la maladie inflammatoire chronique de l'intestin (MICI), l'arthrite rhumatoïde (AR) et la spondylarthrite. Il a été démontré que l'infliximab pouvait induire une rémission profonde et améliorer la qualité de vie des patients^[1]. Certains patients ne répondent pas au traitement par IFX dès son introduction (non-répondants primaires), tandis que pour d'autres, la réponse se perd au fil du temps (non-répondants secondaires)^[2].

Un médicament ne peut avoir une action pharmacologique que lorsque des concentrations adéquates atteignent la circulation. La concentration sérique d'infliximab juste avant la perfusion suivante, définie comme la concentration minimale, doit être utilisée pour le suivi thérapeutique pharmacologique (STP). De récentes données sur le STP ont également démontré qu'une bonne réponse clinique était associée à des concentrations minimales adéquates chez les patients souffrant d'une MICI^[3] et d'arthrite rhumatoïde^[4,5]. Le STP peut donc être essentiel pour optimiser le traitement et pallier la perte de réponse secondaire.

RIDASCREEN® IFX Monitoring utilise un anticorps monoclonal très spécifique (MA-IFX6B7), qui a été isolé et caractérisé à la KU Leuven^[6]. Il détecte uniquement l'infliximab. Il a été démontré que les autres médicaments anti-TNF comme l'adalimumab ou le golimumab n'interfèrent pas avec la mesure^[6].

Les biogénériques d'infliximab (Remsima®, Inflectra® et Flixabi®) sont tout aussi bien quantifiés par RIDASCREEN® IFX Monitoring^[7].

Maladie inflammatoire chronique de l'intestin

La valeur diagnostique du STP chez les patients atteints d'une MICI est décrite ci-dessous pour le traitement d'induction et pour la phase de traitement d'entretien.

Phase de traitement d'induction : il a été démontré que les concentrations minimales d'IFX pendant le traitement (post-)induction étaient associées à une réponse clinique durable^[8,9]. La mesure des concentrations minimales d'infliximab pendant ou peu après le traitement d'induction peut contribuer à identifier les patients sous-exposés et à améliorer leur posologie personnelle^[10].

Phase de traitement d'entretien : il s'avère que les patients prenant des concentrations soutenues d'infliximab pendant la phase de traitement d'entretien ont plus de probabilités de maintien de la rémission que les patients prenant une

concentration minimale indétectable^[11]. Il est utile de surveiller régulièrement la concentration minimale pendant la phase de traitement d'entretien pour optimiser le schéma posologique et améliorer les résultats des traitements^[12]. Dans le cas de RIDASCREEN® IFX Monitoring, il est recommandé de prévoir une plage de concentrations minimales thérapeutiques de 3 à 7 µg/ml, selon l'algorithme TAXIT^[12].

En outre, il a été démontré que, pour les patients ne répondant plus à l'IFX, il était plus utile d'ajuster le traitement au cas par cas en fonction des mesures des concentrations sériques d'IFX qu'à partir d'une stratégie empirique utilisant d'autres options thérapeutiques^[13].

Les échantillons de patients obtenus pendant la phase de traitement d'induction (généralement à la semaine 2 et à la semaine 6) présentent généralement des concentrations minimales plus élevées que ceux des patients prélevés pendant la phase de traitement d'entretien (semaines 12 à 14 et suivantes). Il est donc conseillé d'utiliser une plus forte dilution des échantillons de patients prélevés pendant la phase de traitement d'induction.

Immunogénicité

Une perte de réponse secondaire est souvent due au développement d'anticorps anti-médicament en raison du caractère immunogène du médicament^[14]. Par conséquent, lorsque les concentrations minimales d'infliximab sont très faibles, la mesure des anticorps anti-médicament peut aider à déterminer la stratégie de traitement optimale.

RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies (G09042) ELISA peut être utilisé pour cette analyse.

3. Principe du test

RIDASCREEN® IFX Monitoring utilise un anticorps monoclonal très spécifique dirigé contre l'IFX (MA-IFX6B7, isolé et caractérisé à la KU Leuven) dans le cadre d'une méthode de type sandwich.

Les molécules TNF α sont appliquées à la surface des puits de la microplaque. Une dilution de l'échantillon de sérum ou de plasma des patients est pipetée dans un puits de la microplaque, puis incubée. Pendant cette étape d'incubation, l'IFX se lie spécifiquement aux TNF- α présents sur la plaque. Une seconde phase d'incubation avec MA-IFX6B7, conjugué à de la peroxydase de raifort suit l'étape de lavage. En présence d'IFX, un complexe en sandwich se forme entre les TNF α immobilisés, l'IFX et les anticorps conjugués. Les anticorps marqués à l'enzyme non liés sont éliminés au cours de l'étape de lavage suivante. Après l'ajout du substrat, la solution incolore dans les micropuits virera au bleu en cas de résultat positif du test. Lors de l'ajout du réactif d'arrêt, la couleur passe du bleu au jaune. L'absorbance est proportionnelle à la concentration en IFX dans l'échantillon.

4. Contenu du paquet

Une trousse suffit pour 96 déterminations.

Plate	96 dét.	Plaque de microtitrage, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support ; recouverte de TNF α humain
Standard 1-6	1 300 μ l	6 étalons ; concentrations des étalons 1 à 6 : 0 / 5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml ; contient du NaN $_3$ à 0,09 % ; prêt à l'emploi ; étalonné par rapport au standard international de l'OMS pour l'infliximab 16/170
Low Control +	1 300 μ l	Contrôle positif bas ; contient 30 ng/ml d'IFX et du NaN $_3$ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Control +	1 300 μ l	Contrôle positif ; contient 70 ng/ml d'IFX et du NaN $_3$ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Diluent	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon ; contient du NaN $_3$ à 0,09 % ; prêt à l'emploi ; couleur orange
Conjugate	12 ml	Conjugué ; anticorps monoclonal conjugué à de la peroxydase (MA-IFX6B7) ; prêt à l'emploi ; couleur rouge
Substrate	12 ml	Substrat ; peroxyde d'hydrogène / tétraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à l'emploi
Wash 20x	50 ml	Tampon de lavage (concentré 20 fois) ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient des détergents et des agents antimicrobiens
Stop	6 ml	Réactif d'arrêt, H $_2$ SO $_4$ 0,5 M ; prêt à l'emploi
2 covers (couvertres de plaque)		

Les informations sur les substances dangereuses sont conformes aux exigences d'étiquetage. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Les composants ouverts (réactifs, barrettes à micropuits) doivent être stockés entre 2 et 8 °C jusqu'à leur utilisation suivante et peuvent être conservés pendant 6 mois. Le tampon de lavage dilué peut être utilisé pendant un mois lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C. Toute contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium contenant les barrettes à micropuits doit être ouvert sans arracher le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C. Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Accessoires

- Micropipettes de précision et pipettes de laboratoire standard
- Éprouvette graduée (1000 ml)
- Tubes à essai propres en plastique ou en verre pour la dilution des échantillons
- Chronomètre
- Laveur de microplaques ou pipette multicanaux (300 µl)
- Lecteur de microplaque (450 nm, filtre de référence 620 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets avec une solution d'hypochlorite à 0,5 %
- Incubateur à 37 °C

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux et les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Ne pas mélanger les réactifs ou les barrettes de microtitrage enduites provenant de trousse portant des numéros de lot différents.

Les sérums de contrôle de la trousse (étalons 1 à 6, contrôle positif bas, contrôle positif) ont été testés négatifs pour les anticorps VIH et VHC, ainsi que pour l'antigène HBs. Ils doivent cependant être traités comme s'ils étaient potentiellement infectieux et manipulés conformément aux règlements nationaux en matière de sécurité, de la même façon que les échantillons de patients et tous les matériaux entrant en contact avec eux.

Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et il convient d'éviter tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées. Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons et se laver les mains une fois le test terminé. Ne pas fumer, manger ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs de test sont utilisés.

Le réactif d'arrêt contient de l'acide sulfurique 0,5 M. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. Si la peau est contaminée par le réactif, la rincer à l'eau.

Les réactifs contiennent du NaN_3 comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Le substrat contient du peroxyde d'hydrogène.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Pour ce test, il est possible d'utiliser des échantillons de plasma avec EDTA ou citrate et des échantillons de sérum. Après le prélèvement, le sérum doit être séparé du caillot dès que possible pour éviter l'hémolyse. Transvaser le sérum dans un tube de stockage propre.

Conserver les échantillons entre 2 et 8 °C pendant au moins 3 à 4 jours ou à -20 °C pendant au moins un an. Il convient d'éviter les cycles de congélation et décongélation répétés. Les échantillons doivent être dilués dans le tampon de dilution pour l'échantillon (voir 9.3.1).

Les échantillons dilués peuvent être conservés pendant au moins 8 heures à température ambiante.

9. Réalisation du test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la plaque de microtitrage **Plate** doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après ouverture, les barrettes à micropuits inutilisées (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8°C. Une fois utilisées, les barrettes ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient. Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse. Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Pendant l'incubation, nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film dessus pour éviter toute perte par évaporation. Pour obtenir des instructions sur l'exécution du test avec des instruments ELISA, contacter R-Biopharm AG ou le distributeur local.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de lavage **Wash 20x** dans 19 volumes d'eau distillée (1/20). Verser 50 ml de concentré dans une éprouvette graduée de 1000 ml, puis compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml. La solution reconstituée peut être conservée pendant au moins 1 mois entre 2 et 8 °C. Si la température est plus

élevée, la solution de lavage concentrée peut prendre un aspect troublé sans que cela n'affecte ses performances. La solution redevient transparente après dilution.

9.3. Préparation des échantillons

Conserver les échantillons de sérum ou de plasma entre 2 et 8 °C pendant 3 ou 4 jours ou à -20 °C pendant au moins un an (voir également chapitre 8). Il convient d'éviter les cycles de congélation et décongélation répétés. Les échantillons doivent être dilués dans le tampon de dilution pour l'échantillon (voir 9.3.1).

Les échantillons dilués peuvent être conservés pendant au moins 8 heures à température ambiante.

9.3.1. Dilution de l'échantillon

a) Mesure des concentrations minimales en phase d'entretien du traitement

Pour mesurer la concentration minimale (concentration du médicament juste avant l'administration de la dose suivante) en phase d'entretien du traitement (semaine 12 à 14 et suivantes), les échantillons sont dilués au 1/100 :

Diluer 10 µl d'échantillon dans 990 µl de tampon de dilution de l'échantillon (1/100).

Utiliser 100 µl de cet échantillon final dilué pour le test.

La dilution de l'échantillon au 1/100 permet de déterminer des concentrations d'IFX entre 0,5 et 12 µg/ml.

b) Mesure des concentrations minimales en phase de traitement d'induction

Pour mesurer les concentrations minimales pendant la phase d'induction (généralement semaines 2 et 6) ou pour mesurer des concentrations intermédiaires du médicament, ou des concentrations > 12,0 µg/ml, diluer les échantillons au 1/400 :

diluer 10 µl d'échantillon dans 390 µl de tampon de dilution de l'échantillon (1/40), puis diluer 100 µl de cette solution dans 900 µl de diluant (1/10).

Utiliser 100 µl de cet échantillon final dilué pour le test.

La dilution de l'échantillon au 1/400 permet de déterminer des concentrations d'IFX entre 2,0 et 48 µg/ml.

9.4. Première incubation

Après avoir placé le nombre de puits requis dans le support, ajouter 100 µl des étalons 1 à 6 (à) , le contrôle positif , ainsi que le contrôle positif bas et les échantillons dans les puits appropriés. Bien qu'il puisse être conseillé d'analyser les calibreurs, les contrôles et les échantillons en double, des résultats fiables sont également obtenus en effectuant une seule analyse.

Incuber ensuite la plaque de microtitrage à 37 °C pendant 1 heure.

9.5. Premier lavage

Il est important de réaliser le lavage soigneusement pour obtenir des résultats corrects et donc, de respecter les instructions à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits. Laver ensuite la plaque 5 fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage dilué (voir 9.2). Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

Lorsqu'un laveur de microplaque est utilisé, s'assurer qu'il est correctement réglé par rapport au type de microplaque utilisée. Garantir également l'aspiration de tout le liquide à chaque étape de lavage. Après le dernier lavage, retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

9.6. Seconde incubation

Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits. Incuber ensuite la plaque de microtitrage à 37 °C pendant 30 minutes.

9.7. Deuxième lavage

La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

Laver ensuite la plaque 5 fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage dilué. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat dans chaque puits. Incuber ensuite la plaque à 37 °C, dans le noir, pendant 10 minutes. Arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de réactif d'arrêt dans chaque puits.

Après un mélange soigneux (en tapotant légèrement le côté de la plaque), mesurer l'absorbance à 450 nm (filtre de référence 620 nm) dans un lecteur de plaque.

10. Contrôle qualité - signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

À des fins de contrôle qualité, chacun des étalons 1 à 6 (–) , le contrôle positif et le contrôle positif bas (il est recommandé de procéder en double) doivent être utilisés à chaque fois que le test est effectué pour s'assurer que le réactif est stable et que la procédure est correcte.

Pour que chaque analyse soit valide, les spécifications suivantes doivent être respectées :

Valeur DO pour l'étalon 1

Standard 1

 < 0,080

Valeur DO pour l'étalon 6

Standard 6

 > 1,400

a) Pour un facteur de dilution de 1/100 (phase de traitement d'entretien) :

Concentration pour le contrôle positif bas

Low Control +

 :

3 µg/ml, plage de 2 à 4 µg/ml

Concentration pour le contrôle positif

Control +

 :

7 µg/ml, plage de 5 à 10 µg/ml

b) Pour un facteur de dilution de 1/400 (phase de traitement d'induction) :

Concentration pour le contrôle positif bas

Low Control +

 :

12 µg/ml, plage de 8 à 16 µg/ml

Concentration pour le contrôle positif

Control +

 :

28 µg/ml, plage de 20 à 40 µg/ml

Pour calculer la concentration d'IFX dans les contrôles, il convient d'utiliser le même facteur de multiplication que pour les échantillons (voir **Chapitre 11. Évaluation et interprétation**). La concentration est alors exprimée en µg/ml.

Exemple de calcul pour un facteur de dilution au 1/100 :

60 ng/ml x 100 (facteur de dilution) = 6 µg/ml

Si les valeurs diffèrent des valeurs requises ou si le substrat est trouble ou bleu avant d'être ajouté dans les puits, cela peut indiquer que les réactifs sont périmés. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation du test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

En cas de bruit de fond important (DO étalon 1 > 0,08), le lavage était insuffisant. Répéter le test avec un lavage plus vigoureux (augmenter le nombre de cycles, le temps de trempage).

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites le renouvellement du test, contacter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

RIDA®SOFT Win.net est requis pour analyser les résultats. RIDA®SOFT Win.net (ou mise à jour) est disponible sur demande auprès de R-Biopharm AG ou de votre distributeur R-Biopharm local.

Tout autre logiciel d'évaluation disposant du modèle logistique à 4 paramètres peut également être utilisé à la place de RIDA®SOFT Win.net.

L'évaluation du test RIDASCREEN® IFX Monitoring s'effectue au moyen de la courbe standard, qui doit toujours être calculée parallèlement au déroulement de l'analyse.

Pour le contrôle de qualité final, R-Biopharm AG a déterminé les valeurs cibles et la plage de concentration autorisée pour le contrôle positif et le contrôle positif bas pour chaque lot de kit dans des conditions de test idéales.

Le facteur de dilution doit être pris en compte dans le calcul de la concentration d'IFX dans les échantillons du patient, en le multipliant par la concentration mesurée.

Exemple: le résultat de l'échantillon dilué au 1/100, obtenu par interpolation de la courbe d'étalonnage, est de 60 ng/ml. La concentration d'IFX correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 6 µg/ml.

Exemple: le résultat de l'échantillon dilué au 1/400, obtenu par interpolation de la courbe d'étalonnage, est de 60 ng/ml. La concentration d'IFX correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 24 µg/ml.

Si vous utilisez le logiciel RIDA®SOFT Win.net, le facteur de dilution est automatiquement appliqué lorsque vous utilisez la méthode appropriée :

Pour une dilution au 1/100, sélectionner : RIDA®SOFT Win.net méthode IFX100.met.

Pour une dilution au 1/400, sélectionner : RIDA®SOFT Win.net méthode IFX400.met.

La concentration est exprimée en µg/ml.

12. Limites de la méthode

Du fait de son immunogénicité, le test RIDASCREEN® IFX Monitoring détecte la partie libre et fonctionnellement active de l'IFX et non la partie de l'IFX qui est liée aux anticorps anti-infliximab.

Des concentrations individuelles d'infliximab, mesurées à l'aide du test RIDASCREEN® IFX Monitoring, ne suffisent pas pour indiquer des changements dans le schéma posologique. Il convient d'évaluer cliniquement chaque patient avant de procéder à des changements dans le schéma posologique.

Pendant la phase d'entretien du traitement, il convient d'obtenir un résultat dans la plage de concentrations minimales thérapeutiques de 3 à 7 µg/ml^[12]. Cependant, les concentrations minimales associées à la rémission peuvent varier d'un patient à l'autre du fait de la variabilité intra et inter-individus de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamique. De plus, on pense que des concentrations minimales plus élevées sont associées à une réponse et une rémission chez les patients ayant des

phénotypes de maladies spécifiques, par exemple les patients atteints de maladie périnéale ou lorsque l'on cherche à obtenir une guérison endoscopique^[15,16].

13. Performances

13.1. Exemples de valeurs de densité optique (DO) types

Étalon	DO
1	0,007
2	0,104
3	0,212
4	0,453
5	1,357
6	2,508

13.2. Précision

13.2.1. Reproductibilité (précision intra-série)

La précision intra-série a été déterminée au cours d'une seule analyse utilisant 4 références étudiées en 21 répétitions. Les concentrations en IFX ont été déterminées à partir des valeurs de DO de ces mesures. La valeur moyenne, l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Référence	1	2	3	4
Moyenne (µg/ml)	0,61	1,12	3,2	7,67
ET	0,04	0,05	0,15	0,51
% CV	6,6	4,6	4,7	6,8

13.2.2. Précision inter-séries

La précision inter-séries a été déterminée en 5 séries à l'aide de 4 références. Les concentrations en IFX ont été déterminées à partir des valeurs de DO de ces mesures. La valeur moyenne, l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

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

13.3. Spécificité

13.3.1. Sérum/plasma humain normal

La spécificité a été déterminée en testant 72 échantillons de donneurs non traités de Belgique. Aucun échantillon n'a montré de concentration détectable d'IFX, soit une spécificité de 100 %.

13.3.2. Interférence

Un panel de 30 échantillons susceptibles d'interférer avec les substances du test a été analysé (panel constitué d'échantillons positifs aux HAMA, lipémiques, hémolysés, prélevés pendant le premier semestre de la grossesse ou contenant des taux élevés de bilirubine/cholestérol). Aucune interaction avec les facteurs évalués n'a été observée.

13.3.3. Réactivité croisée

Aucune réactivité croisée n'a été observée pour les produits biopharmaceutiques suivants utilisés pour traiter les maladies auto-immunes : adalimumab et golimumab.

13.4. Sensibilité analytique

Pour déterminer la sensibilité analytique, des dilutions en série du standard 2 (5 ng/ml) ont été préparées et testées parallèlement à deux échantillons de contrôle. La limite de détection a été définie comme < 1 ng/ml. Avec un facteur de dilution de 1/100, elle correspond à 0,1 µg/ml.

13.5. Récupération

17 échantillons négatifs à l'IFX ont été enrichis de différentes concentrations en IFX. D'après les valeurs de DO de cette mesure, la concentration d'IFX a été déterminée à l'aide de la courbe standard et la récupération a été calculée. La récupération moyenne s'élève à 103,5 %.

Échantillon	Valeur prévue (µg/ml)	Valeur observée (µg/ml)	% de récupération
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
Moyenne			103,5

13.6. Corrélation avec le test de référence

Deux panels d'échantillons cliniques comptant 102 et 30 échantillons ont été analysés avec le test RIDASCREEN® IFX Monitoring puis les résultats ont été comparés à ceux des tests de référence (IFX ELISA développé à la KU Leuven). Les coefficients de corrélation pour les deux panels d'échantillons ont été évalués entre 0,95 et 0,97.

14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et description
2019-11-04	4. Contenu du paquet 9.4. Première incubation

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in vitro</i> .
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

Plate	Plaque de microtitrage
Standard 1-6	Étalons 1 à 6
Low Control +	Contrôle faiblement positif
Control +	Contrôle positif
Diluent	Tampon de dilution d'échantillon
Conjugate	Conjugué
Substrate	Substrat
Wash 20x	Tampon de lavage (concentré 20 fois)
Stop	Réactif d'arrêt

16. Bibliographie

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- 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.