

RIDASCREEN® IFX Monitoring

REF G09041



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDASCREEN® IFX Monitoring è un dosaggio immunoenzimatico destinato alla determinazione quantitativa di infliximab (IFX, Remicade®) nel siero e nel plasma umano.

2. Sintesi e spiegazione del test

Monitoraggio terapeutico del farmaco

Infliximab (IFX) è un anticorpo monoclonale chimerico per uso terapeutico diretto contro la citochina proinfiammatoria TNF α . L'introduzione di infliximab ha rivoluzionato il trattamento di malattie infiammatorie croniche come la malattia infiammatoria intestinale (IBD), l'artrite reumatoide (RA) e la spondiloartrite. È stato dimostrato che infliximab può indurre la remissione profonda e migliorare la qualità di vita del paziente. [1] Alcuni pazienti non rispondono alla terapia con IFX a induzione (non-responder primari), mentre altri perdono la risposta con il tempo (non-responder secondari). [2]

Un medicinale può esercitare il suo effetto farmacologico solo quando si raggiungono adeguate concentrazioni nella circolazione. La concentrazione sierica di infliximab appena prima dell'infusione successiva, definita come concentrazione minima, è stata utilizzata per il monitoraggio terapeutico del farmaco (TDM). Dati recenti sul TDM hanno evidenziato che una buona risposta clinica è associata a concentrazioni minime adeguate nei pazienti affetti da IBD [3] e da RA [4, 5]. Il TDM può pertanto essere determinante per ottimizzare il trattamento e per superare la perdita di risposta secondaria.

RIDASCREEN® IFX Monitoring utilizza un anticorpo monoclonale altamente specifico (MA-IFX6B7), il quale è stato isolato e caratterizzato alla KU di Lovanio. [6] Rileva soltanto infliximab; è stato dimostrato che altri farmaci anti-TNF come per esempio adalimumab o golimumab non interferiscono con la misurazione. [6]

I biosimilari di infliximab (Remsima®, Inflectra® e Flixabi®) sono quantificati altrettanto bene da RIDASCREEN® IFX Monitoring. [7]

Malattia infiammatoria intestinale

Il valore diagnostico del TDM nei pazienti affetti da IBD è descritto di seguito sia per la fase di induzione che per quella di mantenimento della terapia.

Fase di induzione della terapia: è stato dimostrato che le concentrazioni minime di IFX durante la terapia di (post-)induzione sono associate a una risposta clinica prolungata. [8, 9] La misurazione delle concentrazioni minime di infliximab durante la fase di induzione della terapia o poco dopo può aiutare a identificare pazienti esposti a dosi insufficienti e a ottimizzare la dose individuale. [10]

Fase di mantenimento della terapia: è stato dimostrato che i pazienti in terapia di mantenimento assumono dosi elevate di infliximab hanno maggiori probabilità di rimanere in remissione rispetto ai pazienti con concentrazioni minime non rilevabili.

[11] Il regolare monitoraggio della concentrazione minima durante la terapia di mantenimento è utile per ottimizzare il regime posologico e migliorare i risultati terapeutici. [12] In base all'algoritmo TAXIT, per RIDASCREEN® IFX Monitoring si raccomanda un intervallo di concentrazione minima terapeutica target compreso fra 3 e 7 µg/ml. [12]

È inoltre stato dimostrato che aggiustare la terapia individualmente in base ai valori di concentrazione sierica di IFX nei pazienti che smettono di rispondere a IFX è più utile di una strategia empirica che si avvalga di altre opzioni terapeutiche. [13]

I campioni prelevati dai pazienti durante la fase di induzione (in genere alla settimana 2 e 6) presentano di norma concentrazioni minime superiori rispetto ai campioni prelevati durante la terapia di mantenimento (settimana 12 - 14 e successive). Pertanto, si consiglia di diluire maggiormente i campioni prelevati durante la fase di induzione della terapia.

Immunogenicità

La perdita secondaria di risposta è spesso dovuta allo sviluppo di anticorpi antifarmaco, a causa del carattere immunogenico del farmaco. [14] In caso di concentrazioni minime non rilevabili, la successiva misurazione di anticorpi antifarmaco può essere utile per stabilire la strategia terapeutica ottimale. Per questa analisi può essere utilizzato RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies (G09042) ELISA.

3. Principio del test

Nel dosaggio RIDASCREEN® IFX Monitoring, viene utilizzato un anticorpo monoclonale anti-IFX altamente specifico (MA-IFX6B7, isolato e caratterizzato alla KU di Lovanio) in un metodo a sandwich.

Molecole di TNF α sono applicate alla superficie del pozzetto nella piastra di microtitolazione. Una diluizione del campione di siero o di plasma dei pazienti viene pipettata nel pozzetto della piastra di microtitolazione e incubata. Durante tale fase di incubazione IFX si lega specificamente al TNF α sulla piastra. Dopo il lavaggio, segue una seconda fase di incubazione con MA-IFX6B7, coniugato con perossidasi del rafano. In presenza di IFX si forma un complesso a sandwich costituito da TNF α immobilizzato, IFX e anticorpi coniugati. Gli anticorpi non legati marcati da enzima vengono rimossi durante un'ulteriore fase di lavaggio. Dopo l'aggiunta di un substrato, la soluzione in precedenza incolore nei micropozzetti diventerà blu in caso di risultato del test positivo. All'aggiunta del reagente bloccante il colore vira dal blu al giallo. L'assorbanza è proporzionale alla concentrazione di IFX presente nel campione.

4. Contenuto della confezione

Un kit è sufficiente per 96 test.

Plate	96 test	Piastra di microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (separabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con TNF α umano
Standard 1-6	1300 μ l	6 standard; concentrazioni degli standard da 1 a 6: 0 / 5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml; contiene lo 0,09% di NaN ₃ ; pronto per l'uso; calibrato rispetto allo standard internazionale dell'OMS per Infliximab 16/170
Low Control +	1300 μ l	Controllo positivo basso; contiene 30 ng/ml di IFX e lo 0,09% di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Control +	1300 μ l	Controllo positivo; contiene 70 ng/ml di IFX e lo 0,09% di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Diluent	100 ml	Tampone di diluizione del campione; contiene 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso; di colore arancione
Conjugate	12 ml	Coniugato; coniugato perossidasi; anticorpo monoclonale (MA-IFX6B7); pronto per l'uso; di colore rosso
Substrate	12 ml	Substrato; perossido di idrogeno / tetrametilbenzidina (TMB); pronto per l'uso
Wash 20x	50 ml	Tampone di lavaggio (conc. 20 X); soluzione NaCl tamponata al fosfato; contiene agenti detergenti e antimicrobici
Stop	6 ml	Reagente bloccante; 0,5 M H ₂ SO ₄ ; pronto per l'uso
2 covers per piastra		

Le informazioni sulle sostanze pericolose sono conformi ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dati di sicurezza (SDS) all'indirizzo www.r-biopharm.com.

5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. I componenti aperti (reagenti, strisce di micropozzetti) vanno conservati a 2 - 8 °C fino all'utilizzo successivo, per un massimo di 6 mesi. Il tampone di lavaggio diluito può essere utilizzato per un mese se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.

La busta in alluminio contenente le strisce di microtitolazione deve essere aperta in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce di micropozzetti che non sono necessarie devono essere immediatamente rimesse nella busta in alluminio e conservate a 2 - 8 °C. Il substrato incolore deve essere protetto dalla luce diretta per evitare che si decomponga o diventi blu per effetto dell'auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1. Reagenti

- Acqua distillata o deionizzata

6.2. Accessori

- Micropipette di precisione e pipette standard da laboratorio
- Cilindro graduato (1000 ml)
- Provette pulite di vetro o di plastica per la diluizione dei campioni
- Cronometro
- Dispositivo di lavaggio per micropiastre o pipetta multicanale (300 µl)
- Lettore di micropiastre (450 nm, filtro di riferimento 620 nm)
- Carta filtrante (carta da laboratorio)
- Contenitore per rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5 %
- Incubatore da 37 °C

7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici e attenersi rigorosamente alle istruzioni per eseguire il test.

Non mescolare reagenti o strisce di microtitolazione rivestite provenienti da kit con numeri di lotto diversi.

I sieri di controllo del kit (standard 1-6, controllo positivo basso, controllo positivo) sono stati testati per HIV-Ab, HCV-Ab e HBs-Ag e sono risultati negativi. Tuttavia, devono essere trattati come potenzialmente infettivi e maneggiati in conformità alle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti, analogamente ai campioni dei pazienti e a tutti i materiali che entrano in contatto con essi.

Non pipettare con la bocca campioni o reagenti ed evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e lavarsi le mani al termine del test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni o con i reagenti del test.

Il reagente bloccante contiene 0,5 M di acido solforico. Evitare il contatto con la cute e con gli indumenti. In caso di contatto del reagente con la cute sciacquare con acqua.

I reagenti contengono NaN_3 come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Il substrato contiene perossido di idrogeno.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

In questo dosaggio possono essere utilizzati campioni di plasma EDTA, campioni di plasma citrato e campioni di siero. Dopo la raccolta, il siero deve essere separato dal coagulo il più rapidamente possibile per evitare l'emolisi. Trasferire il siero in una provetta pulita per la conservazione.

I campioni possono essere conservati a 2 - 8 °C per almeno 3 - 4 giorni, o a -20 °C per almeno un anno. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento. Diluire i campioni nell'apposito diluente (vedi 9.3.1.).

I campioni diluiti possono essere conservati per almeno 8 ore a temperatura ambiente.

9. Esecuzione del test

9.1. Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra da microtitolazione **Plate** devono essere portati a temperatura ambiente

(20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce di microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente.

Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Una volta aperte, le strisce di micropozzetti non utilizzate (in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce di micropozzetti non devono essere riutilizzate. I reagenti e le strisce di micropozzetti non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o se i flaconcini non sono ermetici. Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione crociata. Il test non deve essere eseguito in presenza di luce solare diretta. Durante l'incubazione, si raccomanda di coprire la piastra di microtitolazione o di sigillarla con una pellicola per evitare la perdita per evaporazione.

Per istruzioni sulle modalità di esecuzione del dosaggio con sistemi ELISA, contattare R-Biopharm AG o il distributore locale.

9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato per tampone di lavaggio **Wash | 20x** con 19 parti di acqua distillata (1:20). Versare 50 ml di concentrato in un cilindro graduato da 1000 ml e aggiungere acqua distillata fino a ottenere 1000 ml. La soluzione ricostituita può essere conservata per almeno 1 mese a 2-8 °C. A temperature più elevate, la soluzione di lavaggio concentrata può apparire torbida senza che ciò ne alteri le caratteristiche. Una volta diluita, la soluzione sarà trasparente.

9.3. Preparazione dei campioni

I campioni di siero o plasma possono essere conservati a 2-8 °C per 3 - 4 giorni, o a -20 °C per almeno un anno (vedi anche il capitolo 8). Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento. Diluire i campioni nell'apposito diluente (vedi 9.3.1.).

I campioni diluiti possono essere conservati per almeno 8 ore a temperatura ambiente.

9.3.1. Diluizione del campione

a) Misurazione delle concentrazioni minime durante la fase di mantenimento della terapia

Per misurare la concentrazione minima (concentrazione del farmaco appena prima della somministrazione successiva) durante la fase di mantenimento della terapia (dalla settimana 12-14 in poi), i campioni sono diluiti 1:100:

10 µl di campione sono diluiti in 990 µl di tampone di diluizione **Diluent** (1:100).

100 µl di questo campione diluito finale sono poi utilizzati nel test.

Se il campione viene diluito 1:100, è possibile determinare concentrazioni di IFX tra 0,5 e 12 µg/ml.

b) Misurazione delle concentrazioni minime durante la fase di induzione della terapia

Per misurare le concentrazioni minime durante la fase di induzione della terapia (tipicamente alla settimana 2 e 6) oppure per misurare concentrazioni intermedie o > 12.0 µg/ml, i campioni vengono diluiti 1:400:

10 µl di campione vengono diluiti in 390 µl di tampone di diluizione **Diluent** (1:40); successivamente, 100 µl di questa soluzione vengono diluiti in 900 µl di **Diluent** (1:10).

100 µl di questo campione diluito finale sono poi utilizzati nel test.

Se il campione viene diluito 1:400, è possibile determinare concentrazioni di IFX tra 2,0 e 48 µg/ml.

9.4. Prima incubazione

Dopo avere collocato un numero sufficiente di pozzetti nel telaio, aggiungere 100 µl di standard 1-6 (da **Standard | 1** a **Standard | 6**), controllo positivo **Control | +**, controllo positivo basso **Low control | +** e campioni ai pozzetti corrispondenti.

Anche se si consiglia di eseguire calibratori, controlli e campioni in duplicato, si ottengono risultati ugualmente affidabili facendo l'analisi in singlicato.

Incubare poi la piastra da microtitolazione coperta a 37 °C per 1 ora.

9.5. Primo lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere risultati corretti e deve pertanto essere effettuato attenendosi rigorosamente alle istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito (vedi 9.2). Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Quando si utilizza un dispositivo di lavaggio per micropiastre, accertarsi che la macchina sia regolata correttamente sul tipo di piastra di microtitolazione impiegato. Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase del lavaggio. Dopo averla lavata l'ultima volta, picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

9.6. Seconda incubazione

Aggiungere 100 µl di coniugato **Conjugate** in ogni pozzetto. Quindi incubare la piastra coperta a 37 °C per 30 minuti.

9.7. Secondo lavaggio

Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

9.8. Terza incubazione

Aggiungere 100 µl di substrato **Substrate** a ogni pozzetto. Incubare poi la piastra a 37 °C al buio per 10 minuti. Quindi arrestare la reazione aggiungendo 50 µl di reagente bloccante **Stop** a ogni pozzetto.

Dopo avere miscelato con attenzione (picchiettando leggermente il lato della piastra) misurare l'assorbanza a 450 nm (filtro di riferimento 620 nm) in un lettore per piastre.

10. Controllo qualità – indicazioni di instabilità o scadenza dei reagenti

Per il controllo di qualità, ogni standard da 1 a 6 **Standard | 1** – **Standard | 6**, il controllo positivo **Control | +** e il controllo positivo basso **Low control | +** (ciascuno in duplicato come raccomandato) devono essere utilizzati a ogni esecuzione del test per garantire la stabilità del reagente e procedure corrette.

Affinché un ciclo sia valido è necessario che durante la sua esecuzione vengano soddisfatte le seguenti specifiche:

Valore OD per Standard 1

Standard 1

 < 0,080

Valore OD per Standard 6

Standard 6

 > 1,400

a) Se viene usato il fattore di diluizione 1:100 (fase di terapia di mantenimento):

Concentrazione per il controllo positivo basso

Low Control +

:

3 µg/ml, intervallo 2-4 µg/ml

Concentrazione per il controllo positivo

Control +

:

7 µg/ml, intervallo 5-10 µg/ml

b) Se viene usato il fattore di diluizione 1:400 (fase della terapia di induzione):

Concentrazione per il controllo positivo basso

Low Control +

:

12 µg/ml, intervallo 8-16 µg/ml

Concentrazione per il controllo positivo

Control +

:

28 µg/ml, intervallo 20-40 µg/ml

Per calcolare la concentrazione di IFX nei controlli deve essere utilizzato lo stesso fattore di moltiplicazione dei campioni (vedi **Capitolo 11. Valutazione e interpretazione**). La concentrazione è quindi espressa in µg/ml.

Esempio di calcolo per fattore di diluizione 1:100:

60 ng/ml x 100 (fattore di diluizione) = 6 µg/ml

Se i valori differiscono da quelli richiesti, se il substrato è torbido o è diventato blu prima dell'aggiunta ai pozzetti, questo può indicare che i reagenti sono scaduti. Se i valori fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (ad es. calibrazione)
- Procedura di esecuzione del test corretta
- Controllare visivamente che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite: non utilizzare una soluzione di substrato che sia diventata blu.

Un segnale di fondo elevato (OD standard 1 >0,08) indica lavaggio insufficiente. Ripetere il test con un lavaggio più energico (maggior numero di cicli, tempo di immersione).

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, contattare il produttore o il proprio distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

Per l'analisi dei risultati è necessario RIDA®SOFT Win.net. Il software RIDA®SOFT Win.net o un aggiornamento può essere richiesto a R-Biopharm AG o al proprio distributore R-Biopharm locale.

Come alternativa a RIDA®SOFT Win.net può essere utilizzato anche qualsiasi altro software di valutazione che fornisce il modello logaritmico logistico a 4 parametri.

La valutazione di RIDASCREEN® IFX Monitoring è ottenuta mediante curva standard che deve sempre essere elaborata durante l'esecuzione del test.

Nel controllo di qualità finale, R-Biopharm AG ha stabilito i valori target e l'intervallo di concentrazione consentito per il controllo positivo e il controllo positivo basso per ciascun lotto del kit in condizioni di test ottimali.

Il fattore di diluizione deve essere preso in considerazione nel calcolare la concentrazione di IFX nei campioni dei pazienti, moltiplicando la concentrazione misurata per il fattore di diluizione.

Esempio: L'esito del campione diluito 1:100, ottenuto per interpolazione dalla curva di calibrazione, è 60 ng/ml. La concentrazione di IFX corrispondente nel campione non diluito è dunque 6 µg/ml.

Esempio: L'esito del campione diluito 1:400, ottenuto per interpolazione dalla curva di calibrazione, è 60 ng/ml. La concentrazione di IFX corrispondente nel campione non diluito è dunque 24 µg/ml.

Se viene utilizzato il software RIDA®SOFT Win.net il fattore di diluizione è applicato automaticamente quando viene usato il metodo appropriato:

Per la diluizione 1:100 selezionare: RIDA®SOFT Win.net metodo IFX100.met.

Per la diluizione 1:400 selezionare: RIDA®SOFT Win.net metodo IFX400.met.

La concentrazione viene indicata in µg/ml.

12. Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® IFX Monitoring rileva la quota di IFX libero, funzionalmente attivo e non la quota di IFX legato dagli anticorpi anti-infliximab, a causa dell'immunogenicità.

Le sole concentrazioni di infliximab, misurate con il test RIDASCREEN® IFX Monitoring, non può essere usato come unico criterio per decidere di modificare il regime posologico, e prima di procedere in tal senso ogni paziente deve essere sottoposto a un esame clinico completo e approfondito.

Durante la fase di mantenimento si raccomanda un intervallo di concentrazione minima terapeutica target di 3 - 7 µg/ml. ^[12] Tuttavia, le concentrazioni soglia associate a remissione possono variare da un paziente all'altro in ragione della variabilità intra- e inter-individuale nei parametri farmacocinetici e farmacodinamici. Inoltre, concentrazioni minime più elevate potrebbero associarsi a risposta e remissione in pazienti con patologie di fenotipi particolari, ad esempio pazienti con malattia perianale, o quando l'obiettivo terapeutico è la guarigione endoscopica. ^[15,16]

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Esempio di valori tipici di densità ottica (O.D.)

Standard	O.D.
1	0,007
2	0,104
3	0,212
4	0,453
5	1,357
6	2,508

13.2. Precisione

13.2.1. Precisione intra-analisi

La precisione intra-analisi è stata determinata in un unico ciclo utilizzando 4 riferimenti in 21 replicati ciascuno. Le concentrazioni di IFX sono state determinate dai valori OD di queste misurazioni. Per ogni campione sono stati calcolati il valore medio, la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV). I risultati sono elencati nella tabella sottostante.

Riferimento	1	2	3	4
Media (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. Precisione inter-analisi

La precisione inter-analisi è stata determinata in 5 cicli utilizzando quattro riferimenti. Le concentrazioni di IFX sono state determinate dai valori OD di queste misurazioni. Per ogni campione sono stati calcolati il valore medio, la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV). I risultati sono elencati nella tabella sottostante.

Riferimento	1	2	3	4
Media (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. Specificità

13.3.1. Siero/plasma umano normale

La specificità è stata determinata mediante l'analisi di 72 campioni di donatori non trattati di origine belga. Nessuno dei campioni ha evidenziato una concentrazione rilevabile di IFX, con conseguente specificità del 100 %.

13.3.2. Interferenza

È stato analizzato un panel di 30 campioni potenzialmente interferenti composto da campioni HAMA positivi, lipemici, iperbilirubinemici, ipercolesterolemici, emolizzati e di donne nel primo semestre di gravidanza. Non è stata osservata alcuna interazione con i fattori esaminati.

13.3.3. Reattività incrociata

Non è stata osservata alcuna reattività incrociata per i seguenti biofarmaci applicati per il trattamento di malattie autoimmuni: adalimumab e golimumab.

13.4. Sensibilità analitica

Per la determinazione della sensibilità analitica sono state preparate e testate diluizioni di Standard 2 (5 ng/ml) insieme a due campioni di controllo. Il limite di rilevazione è stato determinato come < 1 ng/ml. Tenendo conto di un fattore di diluizione 1:100, questo corrisponde a 0,1 µg/ml.

13.5. Recupero

17 campioni negativi a IFX sono stati addizionati con concentrazioni variabili di IFX. In base ai valori OD di questa misurazione, la concentrazione di IFX è stata determinata utilizzando la curva standard e il recupero calcolato. Il recupero medio è del 103,5 %.

Campione	Previsto (µg/ml)	Osservato (µg/ml)	Recupero %
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
Media			103,5

13.6. Correlazione con dosaggi di riferimento

Sono stati analizzati due panel di campioni clinici con 102 e 30 campioni utilizzando il RIDASCREEN® IFX Monitoring e i risultati sono stati confrontati con quelli dell'analisi di riferimento (ELISA IFX sviluppata alla KU di Lovanio). Per i due panel di campioni sono stati determinati coefficienti di correlazione da 0,95 a 0,97.

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e descrizione
2019-11-14	4. Contenuto della confezione 9.4. Prima incubazione

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

Plate	Piastra da microtitolazione
Standard 1-6	Standard 1-6
Low Control +	Controllo positivo basso
Control +	Controllo positivo
Diluent	Tampone di diluizione
Conjugate	Coniugato
Substrate	Substrato
Wash 20x	Tampone di lavaggio (conc. 20 X)
Stop	Reagente bloccante

16. Bibliografia

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.