

## RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies

**REF** G09042



## 1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies es un inmunoensayo enzimático diseñado para la determinación cuantitativa de anticuerpos contra el infliximab (ATI) en suero y plasma humanos.

## 2. Resumen y descripción del ensayo

### Monitorización terapéutica de fármacos

El infliximab (IFX) es un anticuerpo monoclonal terapéutico quimérico dirigido contra la citocina proinflamatoria TNF-alfa. La introducción del 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 el infliximab puede inducir una remisión profunda y mejorar la calidad de vida del paciente [1]. Algunos pacientes no responden al tratamiento con infliximab en la fase de inducción (no respondedores primarios), mientras que otros pierden respuesta con el tiempo (no respondedores secundarios). [2]

### Inmunogenicidad

La pérdida secundaria de eficacia del fármaco se produce con frecuencia debido a sus características inmunogénicas, que inducen el desarrollo de anticuerpos contra el infliximab (ATI). [3,4] Los ATI pueden aparecer en cualquier paciente que reciba tratamiento con infliximab, y su acción principal es neutralizar la actividad del infliximab a través de la formación de inmunocomplejos. Además, estos inmunocomplejos se eliminan rápidamente del sistema. Desde un punto de vista analítico, son responsables de las concentraciones subterapéuticas de infliximab. Por lo tanto, en el caso de concentraciones mínimas muy bajas (< 1 µg/ml) de infliximab, la posterior medición de ATI podría ser útil para determinar la estrategia de tratamiento óptima.

### Valor diagnóstico

El valor diagnóstico de RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies reside en su capacidad para clasificar a los pacientes con concentraciones subterapéuticas (<1 µg/ml) de infliximab como pacientes que necesitan un aumento de dosis o pacientes que deberían cambiar a otro fármaco. En varios estudios se ha demostrado que los pacientes con concentraciones bajas (<1 µg/ml) de infliximab y títulos bajos o nulos de ATI pueden beneficiarse de un aumento de la dosis de infliximab. [5, 6] Es importante monitorear estrictamente el título de ATI en los pacientes a los que se está aumentando la dosis. Los pacientes que presenten títulos elevados de ATI deben cambiar preferiblemente a un nuevo fármaco, ya sea de la misma clase o de otra.

**Nota: RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies no puede detectar ATI en presencia de concentraciones elevadas de infliximab. Solo debe**

**utilizarse cuando se cuantifique <1 µg/ml de infliximab en las muestras con RIDASCREEN® IFX Monitoring (G09041).**

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

En RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies se utiliza un anticuerpo monoclonal muy específico (MA-IFX10F9), aislado y caracterizado en la Universidad de Lovaina (KU Leuven), en un ELISA de puente.<sup>[8]</sup> Este anticuerpo se une específicamente al infliximab.

Se aplican moléculas de infliximab a la superficie de los micropocillos de la placa. Se pipetea una dilución de la muestra de suero o plasma del paciente que se desea analizar en los pocillos de la placa y se incuba. Durante este paso de incubación, los anticuerpos anti-IFX se unen específicamente al infliximab en la fase sólida. Tras un paso de lavado que elimina las proteínas del suero no unidas, las tiras se incuban con infliximab conjugado con biotina, que se une directamente al complejo antígeno-anticuerpo. Después de eliminar el conjugado de biotina no unido, las tiras se incuban con estreptavidina conjugada con peroxidasa. Tras añadir el sustrato, la enzima unida cambia la coloración de la solución de incolora a azul en los pocillos de la placa, si el ensayo es positivo. Al añadir el reactivo de parada, el color cambia de azul a amarillo. La absorbancia es proporcional a la concentración de ATI presente en la muestra.

#### 4. Reactivos suministrados

Un kit es suficiente para 96 determinaciones.

Plate	96 det.	Placa de microtitulación, 12 tiras de micropocillos (divisibles) en el portatiras; recubiertos con infliximab
Standard   1-6	1.3 ml	6 estándares; concentraciones de los estándares 1 a 6: 0 / 0.1 / 0.5 / 1 / 2.5 / 5 ng/ml anti-IFX MA-IFX10F9; contiene 0.09 % de NaN <sub>3</sub> ; listo para usar
Low Control   +	1.3 ml	Control positivo bajo para ATI; contiene 0.375 ng/ml de anti-IFX MA-IFX10F9 y 0.09 % de NaN <sub>3</sub> ; listo para usar
Control   +	1.3 ml	Control positivo para ATI; contiene 3 ng/ml anti-IFX MA-IFX10F9 y 0.09 % de NaN <sub>3</sub> ; listo para usar
Diluent	100 ml	Solución amortiguadora para dilución de muestras; contiene 0.09 % NaN <sub>3</sub> ; listo para usar, color naranja.
Conjugate   1	12 ml	Conjugado 1; infliximab conjugado con biotina; listo para usar; de color azul
Conjugate   2	12 ml	Conjugado 2; estreptavidina conjugada con peroxidasa; lista para usar; de color rojo
Substrate	12 ml	Sustrato; peróxido de hidrógeno / tetrametilbenzidina (TMB); listo para usar.
Wash	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 usar.
4 cubiertas de placa		

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 - 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 - 8 °C hasta el próximo uso y pueden conservarse durante 6 meses. El búfer de lavado diluido puede utilizarse durante un mes si se almacena a 2 - 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. Las tiras de micropocillos que no vayan a utilizarse deben retornarse inmediatamente a la bolsa de aluminio y almacenarse a 2 - 8 °C. El sustrato incoloro también debe protegerse 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 (1000 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 ácido sulfúrico 0.5 M. 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 - 8 °C durante 3 - 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 de la prueba

### 9.1. Información general

Todos los reactivos y la placa de microtitulación **Plate** deben equilibrarse a la temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de usarlos. 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 del búfer de lavado

Mezcle 1 parte de búfer de lavado concentrado **Wash** con 19 partes de agua destilada (1:20). Vierta 50 ml de concentrado en una probeta graduada de 1000 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 esto afecte los 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

Prepare para cada muestra de paciente una dilución 1:25 y 1:200.

##### a) Dilución 1:25

Mediante la dilución 1:25 de las muestras, pueden determinarse concentraciones de ATI entre 2.5 y 125 ng/ml.

Ejemplo: agregue 25 µl de la muestra del paciente a 600 µl de búfer de dilución de muestras .

Si la concentración obtenida es inferior a 2.5 ng/ml, los resultados no deben extrapolarse y se reportan como < 2.5 ng/ml.

Si la concentración obtenida es superior a 125 ng/ml, los resultados no deben extrapolarse y se reportan como > 125 ng/ml.

##### b) Dilución 1:200

Con una dilución 1:200 de las muestras, pueden determinarse concentraciones de ATI entre 20 y 1000 ng/ml.

Ejemplo: agregue 100 µl de la dilución 1:25 a 700 µl de búfer de dilución de muestras .

Si la concentración obtenida es inferior a 20 ng/ml, los resultados no deben extrapolarse y se reportan como < 20 ng/ml.

Si la concentración obtenida es superior a 1000 ng/ml, los resultados no deben extrapolarse y se reportan como > 1000 ng/ml.

Si ambas diluciones 1:25 y 1:200 producen un valor de concentración medible, se calcula y se reporta la media de ambos valores.

### 9.4. Primera incubación

Tras colocar un número suficiente de pocillos en el soporte, agregue 100 µl de los estándares 1-6 ( a ) , el control positivo  , el control positivo bajo  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 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 enérgicamente la placa (volteada) sobre papel absorbente para asegurar la eliminación completa del líquido de los micropocillos.

A continuación, lave la placa cinco veces con 300 µl de solución amortiguadora de lavado diluida cada vez (ver 9.2). Golpee enérgicamente la placa (volteada) sobre papel absorbente para asegurar la eliminación completa del líquido de 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 enérgicamente la placa (volteada) sobre papel absorbente para asegurar la eliminación completa del líquido de los micropocillos.

### 9.6. Segunda incubación

Agregue 100 µl de conjugado 1 

Conjugate   1
---------------

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

### 9.8. Tercera incubación

Agregue 100 µl de conjugado 2 

Conjugate   2
---------------

 a cada pocillo. A continuación, incube la placa cubierta a 37 °C durante 15 minutos.

### 9.9. Tercer lavado

Las sustancias incubadas en los pocillos deben vaciarse en un recipiente de residuos que contenga solución de hipoclorito para su desinfección. Golpee enérgicamente la placa (volteada) sobre papel absorbente para asegurar la eliminación completa del líquido de los micropocillos. A continuación, lave la placa cinco veces con 300 µl de solución amortiguadora de lavado diluida cada vez. Golpee enérgicamente la placa (volteada) sobre papel absorbente para asegurar la eliminación completa del líquido de los micropocillos.

### 9.10. Cuarta incubación

Agregue 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 agregando 50 µl de reactivo de parada **Stop** a cada pocillo.

Después de mezclar con cuidado (golpeando ligeramente en el lateral de la placa), mida la absorbancia 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

A efectos 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 confirmar la estabilidad de los reactivos y que el procedimiento sea correcto.

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

Valor de D.O. del estándar 1 **Standard | 1** < 0.080;

Valor de D.O. del estándar 6 **Standard | 6** > 1.400

Si no se cumple alguna de las especificaciones, deberá repetirse el ensayo.

Valor de concentración del control positivo bajo **Low control | +**:

0.375 ng/ml, rango 0.25 – 0.50 ng/ml

Valor de concentración del control positivo **Control | +**:

3 ng/ml, rango 2 a 4 ng/ml

Si los valores difieren de los requeridos, si el sustrato está turbio o está de color azul antes de agregarlo a los pocillos, es posible que los reactivos estén vencidos. Si no se alcanzan 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 de la prueba
- 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 D.O. 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. 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 otro software que ofrezca el modelo logístico de 4 parámetros.

RIDASCREEEN® Anti-IFX Antibodies puede evaluarse con una curva estándar, que debe procesarse siempre 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 ATI en las muestras de pacientes, multiplicando la concentración medida por el factor de dilución.

Ejemplo: El resultado de la muestra diluida 1:25, obtenida por interpolación de la curva de calibración, es de 2 ng/ml. La concentración de ATI correspondiente en la muestra sin diluir es entonces de 50 ng/ml.

Ejemplo: el resultado de una muestra diluida 1:200, obtenida mediante la interpolación desde la curva de calibración, es de 2 ng/ml. La concentración de ATI correspondiente en la muestra sin diluir es entonces de 400 ng/ml.

Si ambas diluciones 1:25 y 1:200 producen un valor de concentración medible, se calcula y se reporta la media de ambos valores.

Si se usa el software RIDA®SOFT Win.net, esto se realiza automáticamente cuando se utiliza el método apropiado:

Para la dilución 1:25 seleccione: RIDA®SOFT Win.net, método A-IFX25.met.

Para la dilución 1:200 seleccione: RIDA®SOFT Win.net, método A-IFX200.met.

Las concentraciones se expresan en ng/ml.

## 12. Limitaciones del método

RIDASCREEEN® Anti-IFX Antibodies es un ensayo sensible a fármacos y solo detecta los anticuerpos anti-IFX libres (no unidos). Para una interpretación óptima, se recomienda medir los anticuerpos anti-IFX en muestras de suero/plasma obtenidas en el punto de concentración mínima, justo antes de la siguiente administración de IFX.

Las concentraciones individuales de ATI medidas con RIDASCREEEN® Anti-IFX Antibodies 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.

## 13. Características de rendimiento

### 13.1. Ejemplo de valores típicos de densidad óptica (D.O.)

Estándar	D.O.
1	0.031
2	0.083
3	0.269
4	0.543
5	1.539
6	2.685

### 13.2. Precisión

#### 13.2.1. Precisión intraensayo

La reproducibilidad intraensayo se determinó en una sola secuencia midiendo 21 réplicas de 3 referencias. Los valores de D.O. de estas medidas se utilizaron para determinar las concentraciones de ATI. Se calcularon el valor medio (VM), 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
Media (µg/ml)	0.67	1.25	2.44
DE	0.05	0.08	0.14
<b>% CV</b>	<b>7.5</b>	<b>6.7</b>	<b>5.9</b>

### 13.2.2. Precisión interensayo

La precisión interensayo se determinó en 3 corridas, utilizando 2 referencias. Los valores de D.O. de estas medidas se utilizaron para determinar las concentraciones de ATI. Se calcularon el valor medio (VM), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de cada muestra. Los resultados se indican en la tabla siguiente.

Referencia	1	2
Media (µg/ml)	0.36	2.25
DE	0.05	0.27
<b>% CV</b>	<b>12.4</b>	<b>11.9</b>

### 13.3. Especificidad

#### 13.3.1. Suero/plasma humano normal

La especificidad se ha evaluado realizando pruebas con 100 muestras de donantes sanos de origen holandés. Ninguna de las muestras mostró una concentración detectable de ATI y se obtuvo una especificidad del 100 %.

#### 13.3.2. Interferencia

Se evaluó la posible interferencia de factor reumatoide (FR) en un panel de muestras clínicas de pacientes con enfermedades autoinmunes y positivos para FR en RIDASCREEN® Anti-IFX Antibodies. Los resultados indican que el FR no interfiere con el ensayo.

Se analizó un panel de 35 muestras potencialmente interferentes formado por muestras de HAMA positivas, lipémicas, de bilirrubina alta, colesterol alto, hemolizadas, de contenido proteico total alto y de mujeres en el primer semestre de embarazo. No se observó interacción con los factores investigados.

### 13.4. Sensibilidad analítica

La concentración mínima detectable de ATI es inferior a 0.06 ng/ml.

Considerando un factor de dilución de 1:25, esto corresponde a 1.5 ng/ml.

Considerando un factor de dilución de 1:200, esto corresponde a 12 ng/ml.

Para una dilución 1:25, una concentración inferior a 2.5 ng/ml, correspondiente al estándar más bajo, debe reportarse como < 2.5 ng/ml.

Para una dilución 1:200, una concentración inferior a 20 ng/ml debe reportarse como < 20 ng/ml.

### 13.5. Sensibilidad diagnóstica

Se analizó un panel de 36 muestras clínicas con RIDASCREEN Anti-IFX Antibodies y se compararon los resultados con los datos obtenidos con un ELISA de ATI desarrollado en la Universidad Católica de Lovaina, que sirvió como ensayo de referencia. Las 24 muestras con niveles medibles de ATI según el ensayo de referencia fueron positivas, lo que equivale a una sensibilidad diagnóstica del 100 %.

### 14. Historial de versiones

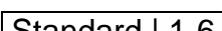
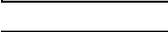
Número de versión	Capítulo y descripción
2019-11-05	2. Resumen y descripción del ensayo 9.4. Primera incubación 16. Bibliografía

### 15. Explicación de los símbolos

#### Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Consulte las instrucciones de uso
	Número de lote
	Caducidad
	Almacene a
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

#### Símbolos específicos del ensayo

	Placa de microtitulación
	Estándar 1 a 6
	Control positivo bajo
	Control positivo

Diluent	Búfer de dilución de muestras
Conjugate   1	Conjugado 1
Conjugate   2	Conjugado 2
Substrate	Sustrato
Wash	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. 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.
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. 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.
6. 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.
7. Van Stappen T, Billiet T, Vande Casteele N, et al. An Optimized Anti-infliximab Bridging Enzyme-linked Immunosorbent Assay for Harmonization of Anti-infliximab Antibody Titers in Patients with Inflammatory Bowel Diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:2172-2177