



RIDASCREEN[®] ADM Monitoring

REF G09043



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt, Alemania
Teléfono: +49 (0) 61 51 81 02-0/Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Uso previsto

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

2. Resumen y descripción del ensayo

Monitorización terapéutica de fármacos

Adalimumab (ADM) es un anticuerpo monoclonal totalmente humano dirigido a la citocina pro-inflamatoria TNF α y utilizado en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas como la enfermedad inflamatoria intestinal, la artritis reumatoide, la espondiloartritis y la psoriasis en placa. Se ha demostrado que adalimumab puede inducir una remisión profunda y mejorar la calidad de vida del paciente. ^[1] Algunos pacientes no responden al tratamiento con ADM 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 adalimumab justo antes de la siguiente inyección, 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 enfermedad inflamatoria intestinal ^[3] y artritis reumatoide. La MTF puede, por lo tanto, ser altamente instrumental para la optimización del tratamiento y para superar la pérdida de respuesta secundaria. ^[4]

RIDASCREEN® ADM Monitoring utiliza un anticuerpo monoclonal altamente específico (MA-ADM40D8, aislado y caracterizado en la Universidad Católica de Lovaina, Bélgica). ^[5] Solo detecta adalimumab; se ha demostrado que otros fármacos anti-TNF, como infliximab y golimumab, no interfieren con la medición. ^[5] Los biosimilares de adalimumab (Amgevita®, Imraldi®) se cuantifican igualmente bien en el RIDASCREEN® ADM Monitoring.

Enfermedad inflamatoria intestinal

El tratamiento de inducción de adalimumab consiste en una dosis subcutánea de 160 mg en la semana 0, seguida de 80 mg en la semana 2 y 40 mg cada dos semanas desde la semana 4 en adelante. Si hay una buena respuesta clínica en la semana 12 a 14, se continúa el tratamiento (mantenimiento).

Fase de mantenimiento del tratamiento: Se ha demostrado que los pacientes en tratamiento de mantenimiento con concentraciones mínimas sostenidas de adalimumab, tienen más probabilidades de permanecer en remisión que los pacientes con concentraciones mínimas no detectables. ^[6,7,8] La comprobación periódica de las concentraciones mínimas de ADM durante el tratamiento de

mantenimiento puede ser útil, por lo tanto, para evaluar la programación del tratamiento con ADM y realizar ajustes cuando sea necesario.

Los pacientes con concentraciones de medicamentos bajas o no detectables pueden beneficiarse de un aumento de la dosis o de un acortamiento del intervalo, mientras que el intervalo en pacientes con concentraciones muy elevadas de ADM se puede prolongar con seguridad.^[9,10] Para adalimumab, se recomienda un intervalo terapéutico objetivo de concentraciones mínimas de 5 a 10 µg/ml.^[9]

Las muestras de pacientes extraídas durante la fase de inducción del tratamiento (generalmente en las semanas 2 y 4) 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.^[6] 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 RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies (G09044).

3. Principio del ensayo

En RIDASCREEN® ADM Monitoring, se utiliza un anticuerpo monoclonal altamente específico contra ADM (MA-ADM40D8, aislado y caracterizado en la Universidad Católica de Lovaina) en un método tipo sándwich.

Se aplican moléculas de TNF α a la superficie de los micropocillos de la placa. Se pipetea en los pocillos de la placa de micropocillos una dilución de la muestra del paciente objeto del ensayo y se incuba. Durante este paso de incubación, el ADM se une específicamente al TNF α en la placa. Tras el lavado, se realiza un segundo paso de incubación junto con MA-ADM40D8, que se conjuga con peroxidasa de rábano picante. En presencia de ADM, se forma un complejo sándwich entre TNF α inmovilizado, ADM 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 ADM 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 α humano
Standard 1-6	1300 μ l	6 estándares; concentraciones de los estándares 1 a 6: 0/5/10/20/60/120 ng/ml; contiene 0.09 % NaN ₃ ; listo para su uso.
Low Control +	1300 μ l	Control positivo bajo; contiene 30 ng/ml ADM y 0.09 % NaN ₃ ; listo para su uso.
Control +	1300 μ l	Control positivo; contiene 70 ng/ml ADM y 0.09 % NaN ₃ ; listo para su uso.
Diluent	100 ml	Solución amortiguadora para dilución de muestras; contiene 0.09 % NaN ₃ ; listo para su uso, color naranja.
Conjugate	12 ml	Conjugado; conjugado de peroxidasa, anticuerpo monoclonal (MA-ADM40D8); listo para su uso; color rojo.
Substrate	12 ml	Sustrato; peróxido de hidrógeno / tetrametilbenzidina (TMB); listo para su uso.
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 ₂ SO ₄ ; listo para su uso.
2 placas covers		

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.

5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos deben almacenarse a 2 °C a 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 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 la concentración 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 ADM entre 0.5 y 12 µg/ml.

b) Medición de la concentración mínima 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 4) 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). A continuación añada 100 µl de esta solución a 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 ADM 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 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 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 ADM 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:

$$60 \text{ ng/ml} \times 100 \text{ (factor de dilución)} = 6 \text{ µg/ml}$$

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® ADM 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 ADM 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 ADM 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 ADM 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 ADM100.met.

Para la dilución 1:400 seleccione: RIDA®SOFT Win.net, método ADM400.met.

La concentración se expresa en µg/ml.

12. Limitaciones del método

El ensayo RIDASCREEN® ADM Monitoring detecta la proporción de ADM libre funcionalmente activo y no la proporción de ADM unido a anticuerpos anti-adalimumab debido a la inmunogenicidad.

Las concentraciones individuales de adalimumab medidas con RIDASCREEN® ADM Monitoring no puede 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 5 a 10 µg/ml. [9] 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 logran la curación de la mucosa y evitan futuras concentraciones no detectables de fármacos y desarrollo de ACF. [9]

13. Características de rendimiento

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

Estándar	DO
1	0.014
2	0.078
3	0.151
4	0.345
5	1.055
6	2.101

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 ADM. Se calculó 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	4
Media (µg/ml)	0.83	1.49	3.58	9.29
DE	0.06	0.15	0.30	0.92
% CV	7.6	10.1	8.4	9.9

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 ADM. Se calculó 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	4
Media (µg/ml)	0.66	1.48	3.55	9.82
DE	0.09	0.11	0.37	1.10
% CV	14.2	7.6	10.3	11.2

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 ADM, con un resultado de especificidad del 100 %.

13.3.2. Interferencia

Se ensayó un grupo de 35 muestras potencialmente interferentes consistente en muestras de HAMA positivas, lipémicas, de bilirrubina alta, de colesterol alto, de contenido proteico total 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: infliximab y golimumab.

13.4. Sensibilidad analítica

La concentración mínima detectable de ADM es inferior a 1 ng/ml. Considerando un factor de dilución de 1:100, esto corresponde a 0.1 µg/ml.

13.5. Recuperación

15 muestras ADM negativas (5 muestras de suero negativas, 5 muestras de plasma con EDTA negativas, 5 muestras de plasma citratado negativas) se adulteraron con tres concentraciones de ADM diferentes (8.0 µg/ml, 5.5 µg/ml y 1.5 µg/ml).

Basándose en los valores de DO de esta medición, la concentración de ADM se determinó usando la curva estándar y la recuperación calculada. La recuperación media es de 102.4 %.

Muestra	N.º	ADM (µg/ml)	Recuperación (%)
Valor de referencia 8.2 µg/ml			
Suero	1	9.3	113.9 %
	2	8.8	107.6 %
	3	7.4	89.8 %
	4	8.4	102.8 %
	5	7.3	89.0 %
Plasma con EDTA	6	8.9	107.9 %
	7	9.0	110.1 %
	8	8.5	103.5 %
	9	8.0	97.7 %
	10	7.8	95.1 %
Plasma citratado	11	8.3	101.2 %
	12	8.6	104.5 %
	13	9.1	111.0 %
	14	8.0	97.8 %
	15	7.6	92.6 %
Valor de referencia 5.8 µg/ml			
Suero	1	4.7	81.4 %
	2	5.4	93.1 %
	3	6.0	102.8 %
	4	6.5	112.1 %
	5	5.1	88.3 %

Muestra	N.º	ADM (µg/ml)	Recuperación (%)
Plasma con EDTA	6	5.5	94.1 %
	7	4.9	84.5 %
	8	5.5	94.5 %
	9	5.3	90.7 %
	10	6.6	113.1 %
Plasma citratado	11	5.7	97.8 %
	12	6.0	103.1 %
	13	5.4	92.6 %
	14	5.3	90.9 %
	15	6.2	107.2 %
Valor de referencia 1.5 µg/ml			
Suero	1	1.5	100.7 %
	2	1.6	105.3 %
	3	1.5	102.0 %
	4	1.8	117.1 %
	5	1.7	111.5 %
Plasma con EDTA	6	1.5	97.3 %
	7	1.7	114.0 %
	8	1.6	106.0 %
	9	1.7	114.4 %
	10	1.8	117.7 %
Plasma citratado	11	1.7	115.3 %
	12	1.5	99.3 %
	13	1.8	117.9 %
	14	1.7	115.5 %
	15	1.6	104.9 %
Media			102.4 %

13.6. Correlación con el ensayo de referencia y la sensibilidad diagnóstica










Se analizaron dos grupos de muestras clínicas de 20 y 21 muestras respectivamente utilizando RIDASCREEN® ADM Monitoring, y los resultados se compararon con datos obtenidos utilizando el ADM ELISA desarrollado en la Universidad Católica de Lovaina, que sirvió como ensayo de referencia. Los coeficientes *r* de Pearson, como indicadores de la correlación entre ambos ensayos, fueron de 0.99 y 0.97 respectivamente. Todas las muestras con niveles medibles de ADM según el ensayo de referencia fueron positivas (16 muestras para el 1, 19 muestras para el panel 2), lo que equivale a una sensibilidad diagnóstica del 100 %.

14. Historial de versiones

Número de versión	Capítulo y descripción
2019-11-04	2. Resumen y descripción del ensayo 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. Restellini S, Chao CY, Lakatos PL, et al. Therapeutic drug monitoring guides the management of Crohn's patients with secondary loss of response to adalimumab. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24:1531-1538.
5. Bian S, Van Stappen T, Baert F, et al. Generation and characterization of a unique panel of anti-adalimumab specific antibodies and their application in therapeutic drug monitoring assays. *J Pharm Biomed Anal* 2016;125:62-67.
6. 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.
7. Baert F, Vande Casteele N, Tops S, Noman M, Van Assche G, Rutgeerts P, Gils A, Vermeire S, Ferrante M. Prior response to infliximab and early serum drug concentrations predict effects of adalimumab in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014 :40(11-12):1324-32.

8. Vande Casteele N, Gils A. Pharmacokinetics of anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: Adding value to current practice. *J Clin Pharmacol*. 2015;55:S39-S50.
9. Papamichael K, Cheifetz A. Use of anti-TNF drug levels to optimize patient management. *Frontline Gastroenterol* 2016;7:289-300.
10. Vande Casteele N, Feagan BG, Gils A, Vermeire S, Khanna R, Sandborn WJ, Levesque BG. Therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: current state and future perspectives. *Curr Gastroenterol Rep* 2014;16:378.