

RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies

REF G09044



1. Uso previsto

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

2. Resumen y descripción del ensayo

Monitorización terapéutica de fármacos

El adalimumab (ADM) es un anticuerpo monoclonal terapéutico totalmente humano dirigido contra la citocina proinflamatoria TNF- α . La introducción de adalimumab ha revolucionado el tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas, como las enfermedades inflamatorias intestinales (EII), la artritis reumatoide (AR), la psoriasis en placas y la espondiloartritis. Se ha demostrado que el adalimumab puede inducir remisiones duraderas y mejorar la calidad de vida de los pacientes. [1] No obstante, algunos pacientes no responden al tratamiento con ADM (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 adalimumab (ATA). Los ATA pueden generarse en cualquier paciente que reciba tratamiento con adalimumab. Estos anticuerpos neutralizan la actividad del adalimumab principalmente a través de la formación de inmunocomplejos. [3] Además, estos inmunocomplejos se eliminan rápidamente del sistema. [4] Desde un punto de vista analítico, son responsables de las concentraciones subterapéuticas de adalimumab.

En caso de concentraciones mínimas de adalimumab muy bajas (< 1 $\mu\text{g/ml}$), la posterior medición de ATA podría ser útil para determinar la estrategia de tratamiento óptima. [5]

Valor diagnóstico

El valor diagnóstico de RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies reside en su capacidad para clasificar a los pacientes con concentraciones subterapéuticas (<1 $\mu\text{g/ml}$) de adalimumab 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 $\mu\text{g/ml}$) de adalimumab y títulos bajos o nulos de ATA pueden beneficiarse de un aumento de la dosis de adalimumab. [5] Es importante monitorear estrictamente los títulos de ATA en los pacientes a los que se está aumentando la dosis. Los pacientes que presenten títulos elevados de ATA deben cambiar preferiblemente a un nuevo fármaco, ya sea de la misma clase o de otra.

Nota: RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies no puede detectar ATA cuando existen concentraciones de adalimumab elevadas. Solo debe utilizarse cuando se detecte <1 µg/ml de adalimumab en las muestras con RIDASCREEN® ADM Monitoring (G09043).

3. Principio del ensayo

En RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies se utiliza un anticuerpo monoclonal muy específico (MA-ADM6A10), aislado y caracterizado en la Universidad de Lovaina (KU Leuven), en un ELISA de puente. Este anticuerpo se une específicamente al adalimumab. [6,7]

Las moléculas de adalimumab se unen a la superficie del pocillo en la placa de microtitulación. Se pipetea una dilución de la muestra del paciente que se desea analizar en los pocillos de una placa de microtitulación y se incuba. Durante este paso de incubación, los anticuerpos anti-ADM se unen específicamente al adalimumab en la placa. Tras un paso de lavado que elimina las proteínas del suero no unidas, las tiras se incuban con adalimumab 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. Los conjugados de peroxidasa no unidos se eliminan. Tras añadir el sustrato, la enzima unida cambia la coloración de la solución de incolora a azul en los pocillos de la placa de microtitulación, si el ensayo es positivo para ATA. Al añadir el reactivo de parada, el color cambia de azul a amarillo. La absorbancia medida es proporcional a la concentración de ATA 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 adalimumab
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-ADM MA-ADM6A10; contiene 0.09 % de NaN ₃ ; listo para usar
Low Control +	1.3 ml	Control positivo bajo para ATA; contiene 0.375 ng/ml anti-ADM MA-ADM6A10 y 0.09 % de NaN ₃ ; listo para usar
Control +	1.3 ml	Control positivo para ATA; contiene 3 ng/ml anti-ADM MA-ADM6A10 y 0.09 % de NaN ₃ ; listo para usar
Diluent	100 ml	Solución amortiguadora para dilución de muestras; contiene 0.09 % NaN ₃ ; listo para usar, color naranja.
Conjugate 1	12 ml	Conjugado 1; adalimumab conjugado con biotina; lista 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 ₂ SO ₄ ; 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.

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. 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 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 a 2 °C a 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 a 2 °C a 8 °C. A temperaturas superiores, la solución de

lavado concentrada puede parecer turbia sin que ello afecte sus resultados. Con la dilución, la solución se tornará transparente.

9.3. Preparación de las muestras

Las muestras de suero o plasma pueden almacenarse a 2 - 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

Con una dilución 1:25 de las muestras, pueden determinarse concentraciones de ATA 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 **Diluent**.

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 ATA entre 20 y 1000 ng/ml.

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

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

Después de colocar una cantidad suficiente de pocillos en el portatiras, agregue 100 µl de estándares 1 a 6 **Standard | 1** a **Standard | 6**, el control positivo **Control | +**, el control positivo bajo **Low Control | +**, y las muestras finales

diluidas. Aunque se recomienda pipetear los estándares, controles y muestras por duplicado, también se obtendrán resultados fiables con ensayos individuales. Después, cubra la placa e incúbela a 37 °C durante 60 minutos.

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

Para 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 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.

RIDASCREEN® Anti-ADM 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 ATA 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 ATA 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 ATA 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 Anti-Adalimumab Antibodies 25.met.

Para la dilución 1:200 seleccione: RIDA®SOFT Win.net, método Anti-Adalimumab Antibodies 200.met.

Las concentraciones se expresan en ng/ml.

12. Limitaciones del método

RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies es un ensayo sensible a fármacos y solo detecta los anticuerpos anti-ADM libres (no unidos). Para una interpretación óptima, se recomienda medir los anticuerpos anti-ADM en muestras de suero/plasma

obtenidas en el punto de concentraciones mínimas, justo antes de la siguiente administración de ADM.

Las concentraciones individuales de ATA medidas con RIDASCREEN® Anti-ADM 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	0.020
2	0.097
3	0.410
4	0.829
5	1.584
6	2.251

13.2. Precisión

13.2.1. Precisión intraensayo

La precisión intraensayo se determinó en una sola corrida, con 20 réplicas de 4 referencias. Se utilizaron los valores D.O. de estas medidas para determinar las concentraciones de ATA mediante la curva estándar, y se calcularon el valor medio (VM), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de las mediciones para cada muestra. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Referencia	1	2	3	4
Media (µg/ml)	0.45	0.87	1.69	3.90
DE	0.05	0.07	0.22	0.51
% CV	11.3	7.9	12.8	13.1

13.2.2. Precisión interensayo

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

Referencia	1	2
Media (µg/ml)	0.36	2.61
DE	0.04	0.35
% CV	10.5	13.2

13.3. Especificidad

13.3.1. Suero/plasma humano normal

La especificidad se evaluó analizando 100 muestras de donantes de personas no tratadas de origen holandés. Ninguna de las muestras mostró una concentración detectable de ATA, con un resultado de especificidad del 100 %.

13.3.2. Interferencia

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

Se analizó un panel de 35 muestras potencialmente interferentes. Este contenía muestras de HAMA positivas, lipémicas y hemolíticas, muestras con niveles elevados de bilirrubina, colesterol y proteína total, y muestras de mujeres embarazadas en la primera mitad del embarazo. No se observó interacción con los factores investigados.

13.4. Sensibilidad analítica

La concentración mínima detectable de ATA 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 20 muestras clínicas con RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies, así como con el ensayo de referencia (ATA ELISA) de KU Leuven. Los resultados de RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies se compararon con los del ensayo de referencia. Todas las muestras que contenían concentraciones de ATA detectables en el ensayo de referencia también fueron positivas con RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies (17 muestras). Estos resultados se corresponden a una sensibilidad diagnóstica del 100 %.

14. Historial de versiones





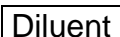
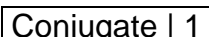
Número de versión	Capítulo y descripción
2019-12-10	9.4. Primera incubación

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
	Búfer de dilución de muestras
	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. van Schie KA, Hart MH, de Groot ER, et al. The antibody response against human and chimeric anti-TNF therapeutic antibodies primarily targets the TNF binding region. *Ann Rheum Dis* 2015;74:311-314.
4. Tabrizi MA, Tseng CM, Roskos LK. Elimination mechanisms of therapeutic monoclonal antibodies. *Drug Discov Today* 2006;11:81-88.
5. Vande Casteele N, Feagan BG, Gils A, et al. Therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: current state and future perspectives. *Curr Gastroenterol Rep* 2014;16:378.
6. Gils A, Vande Casteele N, Poppe R, et al. Development of a Universal Anti-Adalimumab Antibody Standard for Interlaboratory Harmonization. *Therapeutic Drug Monitoring* 2014;36:669-673.
7. Bian S, Ferrante M, Gils A. Validation of a Drug-Resistant Anti-Adalimumab Antibody Assay to Monitor Immunogenicity in the Presence of High Concentrations of Adalimumab. *AAPS J* 2017;19:468-474.