

RIDASCREEN® VDZ Monitoring

REF G09045



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDASCREEN® VDZ Monitoring est un test d'immuno-absorption enzymatique destiné à la détermination quantitative du vedolizumab (VDZ, Entyvio®, anti-intégrine $\alpha_4\beta_7$) dans le sérum et le plasma humains.

2. Résumé et explication du test

Suivi thérapeutique pharmacologique

Le vedolizumab (VDZ) est un anticorps monoclonal humanisé qui se lie spécifiquement à l'intégrine lymphocytaire $\alpha_4\beta_7$. Le VDZ inhibe la liaison de l' $\alpha_4\beta_7$ à la molécule d'adhérence cellulaire I de type adhésine des muqueuses sur les cellules endothéliales, entravant ainsi l'infiltration des cellules exprimant $\alpha_4\beta_7$ dans les muqueuses gastro-intestinales et les tissus lymphoïdes associés à l'intestin. Neutralisant l'inflammation intestinale, le VDZ a été approuvé pour le traitement des patients atteints de colite ulcéreuse (CU) modérée à sévère^[1] et de la maladie de Crohn (MC)^[2,3]. Il a été démontré que VDZ pouvait induire une rémission clinique et améliorer la qualité de vie des patients.

Un médicament ne peut avoir une action pharmacologique que lorsque des concentrations adéquates atteignent la circulation. La concentration sérique de matériaux biologiques juste avant la perfusion suivante, définie comme la concentration minimale, doit être utilisée pour le suivi thérapeutique pharmacologique (STP). Des données récentes sur le STP ont révélé une relation positive entre des concentrations sériques minimales de VDZ et les résultats cliniques des patients atteints de CU et de MC^[4,5,6]. Le STP peut donc s'avérer très utile pour optimiser le traitement.

RIDASCREEN® VDZ Monitoring utilise des anticorps monoclonaux très spécifiques (MA-VDZ6F3 et MA-VDZ6E6), qui ont été isolés et caractérisés à la KU Leuven. Ils détectent uniquement le vedolizumab (Entyvio®). Les médicaments anti-TNF, comme l'infliximab, l'adalimumab ou le golimumab, ne sont pas détectés dans le test.

L'utilisation de mesures de concentrations minimales de VDZ chez des patients atteints de CU et de MD est décrite en guise d'exemple de STP.

Colite ulcéreuse

Le VDZ est administré les semaines 0, 2 et 6 (induction). Si une bonne réponse clinique est obtenue la semaine 14, le traitement est poursuivi sous forme de perfusions administrées toutes les 8 semaines (entretien). Le rapport exposition-efficacité du VDZ évalué dans le cadre d'un essai GEMINI 1 a démontré un rapport exposition-réponse positif en termes de rémission clinique, de réponse clinique et de cicatrisation des muqueuses pour le traitement d'induction de la CU par VDZ^[1]. La mesure des concentrations minimales de VDZ pendant ou juste après l'induction peut être utilisée pour identifier les patients sous-traités. Il a été démontré que des concentrations plus élevées de VDZ sont associées à une rémission profonde chez les patients atteints de CU sous traitement d'entretien^[5]. Par conséquent, un

contrôle régulier des concentrations minimales d'ADM pendant le traitement d'entretien peut être utile pour déterminer le calendrier de traitement par VDZ.

Maladie de Crohn

Le VDZ est administré les semaines 0, 2 et 6 (induction). Si une bonne réponse clinique est obtenue la semaine 14, le traitement est poursuivi sous forme de perfusions administrées toutes les 8 semaines (entretien). Le rapport exposition-efficacité du VDZ évalué dans le cadre d'un essai GEMINI 2 et 3 a révélé un rapport exposition-réponse modéré^[2,3]. Dans les deux études, les taux de rémission clinique étaient plus élevés la semaine 10 que la semaine 6. L'Agence européenne des médicaments autorise une dose supplémentaire la semaine 10 avant évaluation d'une réponse d'induction la semaine 14. Compte-tenu du schéma posologique, les concentrations minimales observées en phase d'induction (semaines 2, 6, 10 et 14) sont plus élevées que les concentrations minimales observées en phase d'entretien, lorsque le VDZ est administré toutes les 8 semaines.

Immunogénicité

Pendant un traitement par VDZ, le taux d'immunogénicité est très faible ($\leq 4\%$) et il est considéré comme un obstacle mineur à l'efficacité du traitement par VDZ. ^[5,7]

3. Principe du test

RIDASCREEN® VDZ Monitoring, utilise des anticorps spécifiques dirigé contre le VDZ (isolé et caractérisé à la KU Leuven), dans le cadre d'une méthode de type sandwich. Les molécules MA-VDZ6F3 de l'anticorps monoclonal anti-VDZ sont appliquées à la surface des puits de la microplaque. Une dilution de l'échantillon de sérum ou de plasma des patients est pipetée dans un puits de la microplaque, puis incubée. Pendant cette étape d'incubation, le VDZ se lie spécifiquement au MA-VDZ6F3 présent sur la plaque. Une seconde phase d'incubation avec l'anticorps monoclonal MA-VDZ6E6 anti-VDZ, conjugué à de la peroxydase de raifort suit l'étape de lavage. En présence du VDZ, un complexe en sandwich se forme entre les anticorps anti-VDZ immobilisés, le VDZ et les anticorps conjugués. Les anticorps marqués à l'enzyme non liés sont éliminés au cours de l'étape de lavage suivante. Après l'ajout du substrat, la solution incolore dans les micropuits virera au bleu en cas de résultat positif du test. Lors de l'ajout du réactif d'arrêt, la couleur passe du bleu au jaune. L'absorbance est proportionnelle à la concentration en VDZ dans l'échantillon.

4. Contenu du paquet

Une trousse suffit pour 96 déterminations.

Plate	96 dét.	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support ; revêtue de l'anticorps monoclonal MA-VDZ6F3
Standard 1-6	1300 µl	6 étalons ; concentrations des étalons 1 à 6 : 0 / 10 / 30 / 100 / 200 / 500 ng/ml ; contient du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Low Control +	1300 µl	Contrôle positif bas ; contient 120 ng/ml de VDZ et du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Control +	1300 µl	Contrôle positif ; contient 250 ng/ml de VDZ et du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Diluent	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon ; contient du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi ; couleur orange
Conjugate	12 ml	Conjugué ; anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase (MA-VDZ6E6) ; prêt à l'emploi ; couleur rouge
Substrate	12 ml	Substrat ; peroxyde d'hydrogène / tétraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à l'emploi
Wash 20x	50 ml	Tampon de lavage (concentré 20 fois) ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient des détergents et des agents antimicrobiens
Stop	6 ml	Réactif d'arrêt, H ₂ SO ₄ 0,5 M ; prêt à l'emploi
2 covers (couvertures de plaque)		

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

5. Instructions de conservation des réactifs

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

Le sachet en aluminium contenant les barrettes à micropuits doit être ouvert sans arracher le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées

entre 2 et 8°C. Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou désionisée

6.2 Accessoires

- Micropipettes de précision et pipettes de laboratoire standard
- Éprouvette graduée (1 000 ml)
- Tubes à essai propres en plastique ou en verre pour la dilution des échantillons
- Chronomètre
- Laveur de microplaque ou pipette multicanaux (300 µl)
- Lecteur de microplaque (450 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets avec 0,5 % de solution d'hypochlorite
- Incubateur à 37 °C

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

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

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

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

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

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

Les réactifs contiennent du NaN₃ comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Le substrat contient du peroxyde d'hydrogène.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

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

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

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

9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

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

Pour obtenir des instructions sur l'exécution du test avec des instruments ELISA, contacter R-Biopharm AG ou le distributeur local.

9.2 Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de lavage **Wash | 20x** dans 19 volumes d'eau distillée (1:20). Verser 50 ml de concentré dans une éprouvette graduée de 1 000 ml, puis compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 1 000 ml. La solution reconstituée peut être conservée pendant au moins 1 mois entre 2 et 8 °C. Si la température est plus élevée, la solution de lavage concentrée peut prendre un aspect troublé sans que cela n'affecte ses performances. La solution redevient transparente après dilution.

9.3 Préparation des échantillons

Conserver les échantillons de sérum et de plasma entre 2 et 8 °C pendant 3 ou 4 jours ou à -20 °C pendant au moins un an (voir également partie 8). Il convient d'éviter les cycles de congélation et décongélation répétés.

Les échantillons doivent être dilués dans le tampon de dilution pour l'échantillon (voir 9.3.1). Les échantillons dilués peuvent être conservés pendant au moins 8 heures à température ambiante.

9.3.1 Dilution de l'échantillon

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

Pour mesurer la concentration minimale (échantillons prélevés juste avant la perfusion suivante) en phase d'entretien du traitement (semaine 14 et suivantes), les échantillons sont dilués au 1:100 :

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

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

La dilution des échantillons au 1:100 permet de déterminer les concentrations de VDZ entre 1 et 50 µg/ml.

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

Pour mesurer la concentration minimale pendant la phase de traitement d'induction (semaines 2, 6 et 14 et, pour la maladie de Crohn, inclure la semaine 10 (voir chapitre 2)) ou pour mesurer les concentrations intermédiaires, diluer les échantillons au 1:400 :

Diluer 10 µl d'échantillon dans 390 µl de tampon de dilution de l'échantillon **Diluent** (1:40).

Puis diluer 100 µl de cette solution à 900 µl de **Diluent** (1:10).

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

La dilution des échantillons au 1:400 permet de déterminer les concentrations de VDZ entre 4 et 200 µg/ml.

9.4 Première incubation

Après avoir placé un nombre suffisant de puits dans le support, ajoutez 100 µl d'étalons 1 à 6 **Standard | 1** à **Standard | 6**, le contrôle positif **Control | +**, le contrôle positif bas **Low Control | +**, et les échantillons finals dilués. Bien qu'il soit recommandé de pipeter les étalons, les contrôles et les échantillons en double, des résultats fiables seront également obtenus avec des dosages uniques. Puis, recouvrir la plaque et l'incuber à 37 °C pendant 60 minutes.

9.5 Premier lavage

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

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

9.6 Deuxième incubation

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

9.7 Second lavage

La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits. Laver ensuite la plaque 5 fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage dilué. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

9.8 Troisième incubation

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

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

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

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

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

Valeur DO pour l'étalon 1

Standard 1

 < 0,080

Valeur DO pour l'étalon 6

Standard 6

 > 1,400

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

Concentration pour le contrôle positif bas

Low Control +

 :

12 µg/ml, plage de 8 à 16 µg/ml

Concentration pour le contrôle positif

Control +

 :

25 µg/ml, plage de 17 à 34 µg/ml

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

Concentration pour le contrôle positif bas

Low Control +

 :

48 µg/ml, plage de 32 à 64 µg/ml

Concentration pour le contrôle positif

Control +

 :

100 µg/ml, plage de 68 à 136 µg/ml

Pour calculer la concentration de VDZ dans les contrôles, il convient d'utiliser le même facteur de multiplication que pour les échantillons (voir **Chapitre 11.**

Évaluation et interprétation). La concentration est alors exprimée en µg/ml.

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

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

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

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

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

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

11. Évaluation et interprétation

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

Un autre logiciel d'évaluation disposant du modèle logistique à 4 paramètres peut également être utilisé à la place de RIDASOFT® Win.NET.

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

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

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

Exemple : le résultat de l'échantillon dilué au 1:100, obtenu par interpolation de la courbe d'étalonnage, est de 120 ng/ml. La concentration de VDZ correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 12 µg/ml

Exemple : le résultat de l'échantillon dilué au 1:400, obtenu par interpolation de la courbe d'étalonnage, est de 150 ng/ml. La concentration de VDZ correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 60 µg/ml.

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

Pour une dilution au 1:100, sélectionner : RIDASOFT® Win.NET, méthode VDZ100.met.

Pour une dilution au 1:400, sélectionner : RIDASOFT® Win.NET, méthode VDZ400.met.

La concentration est exprimée en µg/ml.

12. Limites de la méthode

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

Le test RIDASCREEN® VDZ Monitoring est destiné à être utilisé en tant qu'instrument diagnostique à l'appui des décisions cliniques et non pour les remplacer. Les résultats de RIDASCREEN® VDZ Monitoring doivent toujours être conjointement à tous les autres paramètres disponibles (paramètres spécifiques à la maladie, au médicament et au patient).

13. Performances

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

Étalon	DO
1	0,011
2	0,091
3	0,232
4	0,740
5	1,323
6	2,499

13.2. Précision

13.2.1 Précision intra-série

La précision intra-série a été déterminée au cours d'une seule analyse utilisant 4 références étudiées en 20 répétitions. Les concentrations en VDZ ont été déterminées à partir des valeurs de DO de ces mesures. La valeur moyenne (VM), l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Référence	1	2	3	4
Moyenne ($\mu\text{g/ml}$)	2,64	7,11	13,87	32,35
ET	0,12	0,39	0,75	2,33
% CV	4,6	5,5	5,4	7,2

13.2.2 Précision inter-séries

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

Référence	1	2	3	4
Moyenne ($\mu\text{g/ml}$)	2,67	7,29	14,31	33,42
ET	0,15	0,49	0,93	4,05
% CV	5,8	6,7	6,5	12,1

13.3. Spécificité

13.3.1. Sérum/plasma humain normal

La spécificité a été évaluée en testant 72 échantillons de donneurs sains des Pays-Bas et de Belgique. Aucun échantillon n'a montré de concentration détectable de VDZ, soit une spécificité de 100 %.

13.3.2. Interférence

L'interférence a été évaluée en testant 27 échantillons de FR positifs provenant de patients atteints de maladies auto-immunes, traités avec d'autres médicaments que l'Entyvio®. Aucun échantillon n'a montré de concentration détectable de VDZ, soit une spécificité de 100 %.

Un panel de 25 échantillons susceptibles d'interférer avec les substances du test a été analysé (panel constitué d'échantillons positifs aux HAMA, lipémiques, hémolysés, prélevés pendant le premier semestre de la grossesse ou contenant des taux élevés de cholestérol). Aucune interaction avec les facteurs évalués n'a été observée.

13.3.3. Réactivité croisée

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

13.4. Sensibilité analytique

La limite de détection du VDZ est inférieure à 2,5 ng/ml. Avec un facteur de dilution de 1:100, cela correspond à 0,25 µg/ml.

13.5. Récupération

15 échantillons négatifs au VDZ (5 échantillons de sérum négatifs, 5 échantillons d'EDTA négatifs, 5 échantillons de plasma citraté négatifs) ont été enrichis de trois concentrations de VDZ différentes (6 µg/ml, 12 µg/ml et 40 µg/ml).

D'après les valeurs de DO de cette mesure, la concentration de VDZ a été déterminée à l'aide de la courbe standard et la récupération a été calculée. La récupération moyenne s'élève à 98,1 %.

Échantillon	N°	VDZ (µg/ml)	Récupération (%)
Valeur de référence 43,0 µg/ml			
Sérum	1	41,7	97,0 %
	2	42,9	99,8 %
	3	41,4	96,3 %
	4	39,3	91,4 %
	5	38,9	90,5 %
Plasma EDTA	6	41,5	96,5 %
	7	43,4	100,9 %
	8	44,5	103,5 %
	9	42,5	98,8 %
	10	38,3	89,1 %
Plasma citraté	11	42,9	99,8 %
	12	41,2	95,8 %
	13	39,7	92,8 %
	14	40,5	94,2 %
	15	39,3	91,4 %
Valeur de référence 10,2 µg/ml			
Sérum	1	10,5	102,9 %
	2	9,4	92,2 %
	3	10,5	102,9 %
	4	10,2	100,0 %
	5	10,6	103,9 %
	6	10,1	99,0 %
	7	9,8	96,1 %
Plasma EDTA	8	11,1	108,8 %
	9	10,0	98,0 %
	10	9,7	95,1 %

Échantillon	N°	VDZ (µg/ml)	Récupération (%)
Plasma citraté	11	11,1	108,8 %
	12	9,9	97,1 %
	13	9,8	96,1 %
	14	10,4	102,0 %
	15	9,8	96,1 %
Valeur de référence 6,5 µg/ml			
Sérum	1	6,0	92,3 %
	2	5,7	87,7 %
	3	5,7	87,7 %
	4	6,4	98,5 %
	5	6,9	106,2 %
Plasma EDTA	6	6,2	95,4 %
	7	7,6	116,9 %
	8	6,3	96,6 %
	9	6,7	103,1 %
	10	6,2	95,4 %
Plasma citraté	11	6,4	98,5 %
	12	6,2	95,4 %
	13	7,4	113,8 %
	14	5,7	87,7 %
	15	6,8	104,6 %
Moyenne			98,1 %

13.6. Corrélation avec le test de référence et sensibilité diagnostique










Un panel composé de 17 échantillons cliniques a été analysé à l'aide de RIDASCREEN® VDZ Monitoring puis les résultats ont été comparés aux données obtenues à l'aide d'un test de référence (KU Leuven). Le R de Pearson utilisé comme indicateur de corrélation entre les deux tests donne une valeur de 0,98. Tous les échantillons présentant des taux de VDZ mesurables avec le test de référence ont été détectés positifs (16 échantillons), d'où une sensibilité diagnostique de 100 %.

14. Historique des versions


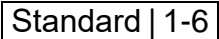
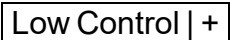
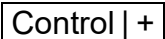
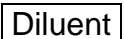
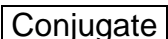
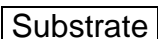
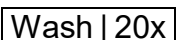

Numéro de version	Chapitre et description
2019-12-10	9.4. Première incubation

15. Signification des symboles

Symboles généraux

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

Symboles spécifiques au test

	Plaque de microtitrage
	Étalons 1 à 6
	Contrôle faiblement positif
	Contrôle positif
	Tampon de dilution d'échantillon
	Conjugué
	Substrat
	Tampon de lavage (concentré 20 fois)
	Réactif d'arrêt

16. Bibliographie

1. Feagan BG, Rutgeerts P, Sands BE, et al. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. *N Engl J Med.* 2013;369:699-710.
2. Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, et al. Vedolizumab as induction and maintenance therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med.* 2013;369:711-721.
3. Sands BE, Feagan BG, Rutgeerts P, et al. Effects of vedolizumab induction therapy for patients with Crohn's disease in whom tumor necrosis factor antagonist treatment failed. *Gastroenterology* 2014;147:618-627.
4. Rosario M, Dirks NL, Milch C, et al. A Review of the Clinical Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Immunogenicity of Vedolizumab. *Clin Pharmacokinet* 2017;56:1287-1301.
5. Rosario M, French JL, Dirks NL, et al. Exposure–efficacy Relationships for Vedolizumab Induction Therapy in Patients with Ulcerative Colitis or Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 2017;11:921-929.
6. Dreesen E, Verstockt B, Bian S, et al. Evidence to support monitoring of vedolizumab trough concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; *Epub ahead of print.*
7. Bian S, Dreesen E, Tang HT, et al. Antibodies toward vedolizumab appear from the first infusion onward and disappear over time. *Inflamm Bowel Dis* 2017;23:2202-2208.