

RIDASCREEN® VDZ Monitoring

REF G09045



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDASCREEN® VDZ Monitoring è un dosaggio di immunoassorbimento enzimatico destinato alla determinazione quantitativa di vedolizumab (VDZ, Entyvio®, anti-integrina $\alpha_4\beta_7$) nel siero e nel plasma umano.

2. Sintesi e spiegazione del test

Monitoraggio terapeutico del farmaco

Vedolizumab (VDZ) è un anticorpo monoclonale umanizzato che si lega esclusivamente all'integrina linfocitaria $\alpha_4\beta_7$. VDZ inibisce l'interazione delle cellule che esprimono $\alpha_4\beta_7$ con la molecola di adesione cellulare addressina mucosale sulle cellule endoteliali, ostacolando in tal modo l'infiltrazione delle cellule che esprimono $\alpha_4\beta_7$ nella mucosa gastrointestinale e nel tessuto linfoide associato all'intestino. VDZ sopprime l'infiammazione intestinale ed è stato quindi approvato nel trattamento dei pazienti con colite ulcerosa da moderata a grave (UC) ^[1] e morbo di Crohn (CD). ^[2,3] È stato osservato che VDZ può indurre la remissione clinica e migliorare la qualità della vita del paziente.

Un medicinale può esercitare il suo effetto farmacologico solo quando si raggiungono adeguate concentrazioni nella circolazione. Per il monitoraggio terapeutico del farmaco (TDM) è stata utilizzata la concentrazione sierica dei preparati biologici appena prima dell'infusione successiva, definita come concentrazione minima. Dati recenti sul TDM hanno mostrato una relazione positiva tra le concentrazioni sieriche minime di VDZ e gli esiti clinici in pazienti con UC e CD. ^[4,5,6] Il TDM può pertanto essere determinante nell'ottimizzazione del trattamento. RIDASCREEN® VDZ Monitoring utilizza anticorpi monoclonali fortemente specifici (MA-VDZ6F3 e MA-VDZ6E6), che sono stati isolati e caratterizzati dall'Università di Lovanio. Questi anticorpi rilevano solo vedolizumab (Entyvio®). Farmaci anti-TNF come per esempio infliximab, adalimumab o golimumab non vengono rivelati nel dosaggio. Come esempio di TDM è stato descritto l'uso delle misurazioni della concentrazione minima di VDZ nella UC e CD.

Colite ulcerosa

VDZ viene somministrato alla settimana 0, alla settimana 2 e alla settimana 6 (induzione) e, in caso di una buona risposta clinica, alla settimana 14; il trattamento viene continuato con infusioni ogni 8 settimane (mantenimento). Le relazioni esposizione-efficacia di VDZ valutate in GEMINI 1 hanno rivelato una relazione esposizione-risposta positiva per la remissione clinica, la risposta clinica e la guarigione mucosale per la terapia di induzione con VDZ nella UC ^[1]. Si possono utilizzare le misurazioni della concentrazione minima di VDZ durante o subito dopo l'induzione, per identificare i pazienti non sufficientemente trattati. È stato dimostrato che concentrazioni più elevate di VDZ sono associate a remissione profonda in pazienti con UC in terapia di mantenimento ^[5]. Quindi, verificare regolarmente le

concentrazioni minime di VDZ durante la terapia di mantenimento può essere utile per valutare lo schema di trattamento con VDZ.

Morbo di Crohn

VDZ viene somministrato alla settimana 0, alla settimana 2 e alla settimana 6 (induzione) e, in caso di una buona risposta clinica, alla settimana 14; il trattamento viene continuato con infusioni ogni 8 settimane (mantenimento). Le relazioni esposizione-efficacia di VDZ valutate in GEMINI 2 e 3 hanno rivelato una modesta relazione esposizione-risposta positiva. ^[2,3] I tassi di remissione clinica erano più alti alla settimana 10 rispetto alla settimana 6 in entrambi gli studi. L'Agenzia europea dei medicinali consente una dose aggiuntiva alla settimana 10 prima di valutare una risposta di induzione alla settimana 14. A causa del regime posologico, le concentrazioni minime durante l'induzione alla settimana 2, settimana 6, settimana 10 e 14 sono maggiori rispetto alle concentrazioni minime durante il mantenimento, quando VDZ viene somministrato ogni 8 settimane.

Immunogenicità

Il tasso di immunogenicità durante il trattamento con VDZ è molto basso (≤ 4 %) ed è visto soltanto come ostacolo minimo per l'efficacia del trattamento con VDZ. ^[5,7]

3. Principio del test

Nel dosaggio RIDASCREEN® VDZ Monitoring, , vengono utilizzati anticorpi monoclonali anti-VDZ specifici (isolati e caratterizzati alla KU di Lovanio) in un metodo a sandwich. Molecole di anticorpo monoclonale anti-VDZ MA-VDZ6F3 sono applicate alla superficie del pozzetto nella piastra di microtitolazione. Una diluizione del campione di siero o di plasma dei pazienti viene pipettata nel pozzetto della piastra di microtitolazione e incubata. Durante tale fase di incubazione, VDZ si lega specificamente a MA-VDZ6F3 sulla piastra. Dopo il lavaggio, segue una seconda fase di incubazione con l'anticorpo monoclonale anti-VDZ MA-VDZ6E6, coniugato con perossidasi del rafano. In presenza di VDZ, si forma un complesso sandwich costituito da anticorpi anti-VDZ immobilizzati, VDZ e anticorpi coniugati. Gli anticorpi non legati marcati da enzima vengono rimossi durante un'ulteriore fase di lavaggio. Dopo l'aggiunta di un substrato, la soluzione in precedenza incolore nei micropozzetti diventerà blu in caso di risultato del test positivo. All'aggiunta del reagente bloccante il colore vira dal blu al giallo. L'assorbanza è proporzionale alla concentrazione di VDZ presente nel campione.

4. Contenuto della confezione

Un kit è sufficiente per 96 test.

Plate	96 test	Piastra di microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (separabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con anticorpo monoclonale MA-VDZ6F3
Standard 1-6	1300 µl	6 standard; concentrazioni degli standard da 1 a 6: 0 / 10 / 30 / 100 / 200 / 500 ng/ml; contiene 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Low Control +	1300 µl	Controllo positivo basso; contiene 120 ng/ml di VDZ e lo 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Control +	1300 µl	Controllo positivo; contiene 250 ng/ml di VDZ e 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Diluent	100 ml	Tampone di diluizione del campione; contiene 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso; di colore arancione
Conjugate	12 ml	Coniugato; coniugato perossidasi; anticorpo monoclonale (MA-VDZ6E6); pronto per l'uso; di colore rosso
Substrate	12 ml	Substrato; perossido di idrogeno / tetrametilbenzidina (TMB); pronto per l'uso
Wash 20x	50 ml	Tampone di lavaggio (conc. 20 X); soluzione NaCl tamponata al fosfato; contiene agenti detergenti e antimicrobici
Stop	6 ml	Reagente bloccante; 0,5 M H ₂ SO ₄ ; pronto per l'uso
2 Piastre covers		

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

5. Istruzioni di conservazione

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

La busta in alluminio contenente le strisce di microtitolazione deve essere aperta in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce di micropozzetti che non sono necessarie devono essere immediatamente rimesse nella busta in alluminio e conservate a 2 - 8 °C. Il substrato incolore deve essere protetto dalla luce diretta per

evitare che si decomponga o diventi blu per effetto dell'auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1. Reagenti

- Acqua distillata o deionizzata

6.2 Accessori

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

7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*.

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

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

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

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

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

I reagenti contengono NaN₃ come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Il substrato contiene perossido di idrogeno.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

In questo dosaggio possono essere utilizzati campioni di plasma con EDTA, campioni di plasma citrato e campioni di siero. Dopo la raccolta, il siero deve essere separato dal coagulo il più rapidamente possibile per evitare l'emolisi. Trasferire il siero in una provetta pulita per la conservazione. I campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2 - 8 °C per 3 - 4 giorni, o a 20°C per almeno un anno. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento. Diluire i campioni nell'apposito diluente (vedi 9.3.1.).

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

9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra di microtitolazione **Plate** devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25°C) prima dell'uso. Le strisce di microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'uso, le strisce di micropozzetti (in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce di micropozzetti non devono essere riutilizzate. I reagenti e le strisce di micropozzetti non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o se i flaconcini non sono ermetici. Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione crociata. Il test non deve essere eseguito in presenza di luce solare diretta. Durante l'incubazione, si raccomanda di coprire la piastra di microtitolazione o di sigillarla con una pellicola per evitare la perdita per evaporazione.

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

9.2 Preparazione del tampone di lavaggio

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

9.3 Preparazione dei campioni

I campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2 - 8 °C per 3 - 4 giorni, o a -20 °C per almeno un anno (vedere anche il passaggio 8). Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento.

Diluire i campioni nell'apposito diluente (vedere 9.3.1.). I campioni diluiti possono essere conservati per almeno 8 ore a temperatura ambiente.

9.3.1 Diluizione del campione

a) Misurazione della concentrazione minima durante la fase della terapia di mantenimento

Per misurare la concentrazione minima (campioni prelevati appena prima dell'infusione successiva) durante la fase di mantenimento della terapia (dalla settimana 14 in poi), i campioni sono diluiti 1:100:

10 µl di campione sono diluiti in 990 µl di tampone di diluizione Diluent (1:100).
100 µl di questo campione diluito finale sono poi utilizzati nel test.

Diluendo i campioni 1:100, è possibile determinare le concentrazioni di VDZ comprese tra 1 e 50 µg/ml.

b) Misurazione della concentrazione minima durante la fase della terapia di induzione

Per misurare la concentrazione minima durante l'induzione della terapia (alla settimana 2, 6 e 14 e, nel morbo di Crohn, anche alla settimana 10 [vedere capitolo 2.]) o misurare le concentrazioni intermedie, i campioni vengono diluiti 1:400:

10 µl di campione sono diluiti in 390 µl di tampone di diluizione Diluent (1:40).
Successivamente 100 µl di questa soluzione vengono diluiti in 900 µl di Diluent (1:10).

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

Diluendo i campioni 1:400 è possibile determinare le concentrazioni di VDZ tra 4 e 200 µg/ml.

9.4 Prima incubazione

Dopo avere collocato un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, aggiungere 100 µl di standard da 1 a 6 Standard | 1 - Standard | 6, il controllo positivo Control | +, il controllo positivo basso Low Control | + e i campioni diluiti finali. Sebbene sia consigliabile pipettare gli standard, i controlli e i campioni in duplicato, i risultati sono affidabili anche con analisi singole. Quindi coprire la piastra e incubarla a 37 °C per 60 minuti.

9.5 Primo lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere risultati corretti e deve pertanto essere effettuato attenendosi rigorosamente alle istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio

diluito (vedi 9.2). Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Quando si utilizza un dispositivo di lavaggio per micropiastre, accertarsi che la macchina sia regolata correttamente sul tipo di piastra di microtitolazione impiegato. Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase del lavaggio. Dopo averla lavata l'ultima volta, picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

9.6 Seconda incubazione

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

9.7 Secondo lavaggio

Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

9.8 Terza incubazione

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

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

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

Per il controllo della qualità, ogni standard da 1 a 6 **Standard | 1** – **iStandard | 6**, controllo positivo **Control | +** e controllo positivo basso **Low control | +** (raccomandati ognuno in duplicato) deve essere utilizzato a ogni esecuzione del test per garantire la stabilità del reagente e procedure corrette.

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

Valore OD per Standard 1 **Standard | 1** < 0,080

Valore OD per Standard 6 **Standard | 6** > 1,400

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

Concentrazione per il controllo positivo basso **Low Control | +**:

12 µg/ml, intervallo 8-16 µg/ml

Concentrazione per il controllo positivo **Control | +**:
25 µg/ml, intervallo 17-34 µg/ml

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

Concentrazione per il controllo positivo basso **Low Control | +**:
48 µg/ml, intervallo 32-64 µg/ml

Concentrazione per il controllo positivo **Control | +**:
100 µg/ml, intervallo 68-136 µg/ml

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

Esempio di calcolo per fattore di diluizione 1:100:

$$60 \text{ ng/ml} \times 100 \text{ (fattore di diluizione)} = 6 \text{ µg/ml}$$

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

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (p. es. calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Controllo visivo dei componenti del kit per verificare che non presentino contaminazione o perdite; una soluzione di substrato che sia diventata blu non deve essere utilizzata.

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

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

11. Valutazione e interpretazione

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

Come alternativa a RIDASOFT® Win.NET può essere utilizzato anche un altro software di valutazione che fornisce il modello logaritmico logistico a quattro parametri.

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

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

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

Esempio: il risultato del campione diluito 1:100, ottenuto per interpolazione dalla curva di calibrazione, è 120 ng/ml. La concentrazione di VDZ corrispondente nel campione non diluito è dunque 12 µg/ml

Esempio: il risultato del campione diluito 1:400, ottenuto per interpolazione dalla curva di calibrazione, è 150 ng/ml. La concentrazione di VDZ corrispondente nel campione non diluito è dunque 60 µg/ml.

Se viene utilizzato il software RIDASOFT® Win.NET il fattore di diluizione è applicato automaticamente quando viene usato il metodo appropriato:

Per la diluizione 1:100 selezionare: Metodo RIDASOFT® Win.NET VDZ100.met.

Per la diluizione 1:400 selezionare: Metodo RIDASOFT® Win.NET VDZ400.met.

La concentrazione viene indicata in µg/ml.

12. Limiti del metodo

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

Il test RIDASCREEN® VDZ Monitoring è previsto per l'utilizzo come strumento diagnostico di supporto alle decisioni cliniche, non in sostituzione alle stesse. I risultati del test RIDASCREEN® VDZ Monitoring devono sempre essere interpretati in correlazione a tutti gli altri parametri disponibili, relativi a paziente, farmaco e specifici per la malattia.

13. Prestazioni e caratteristiche

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

Standard	O.D.
1	0,011
2	0,091
3	0,232
4	0,740
5	1,323
6	2,499

13.2. Precisione

13.2.1 Precisione intra-analisi

La precisione intra-analisi è stata determinata in un unico ciclo utilizzando 4 riferimenti in 20 replicati ciascuno. Le concentrazioni di VDZ sono state determinate dai valori di OD di queste misurazioni. Per ogni campione sono stati calcolati il valore medio (MV), la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV). I risultati sono elencati nella tabella sottostante.

Riferimento	1	2	3	4
Media (µg/ml)	2,64	7,11	13,87	32,35
SD	0,12	0,39	0,75	2,33
% CV	4,6	5,5	5,4	7,2

13.2.2 Precisione inter-analisi

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

Riferimento	1	2	3	4
Media (µg/ml)	2,67	7,29	14,31	33,42
SD	0,15	0,49	0,93	4,05
% CV	5,8	6,7	6,5	12,1

13.3. Specificità

13.3.1. Siero/plasma umano normale

La specificità è stata valutata testando 72 campioni di donatori sani di origine olandese e belga. Nessuno dei campioni ha mostrato una concentrazione rilevabile di VDZ, con conseguente specificità del 100 %.

13.3.2. Interferenza

L'interferenza è stata valutata testando 27 campioni positivi per RF da pazienti affetti da malattie autoimmuni, trattati con farmaci diversi da Entyvio®. Nessuno dei campioni ha mostrato una concentrazione rilevabile di VDZ, con conseguente specificità del 100%.

È stato analizzato un panel di 25 campioni potenzialmente interferenti composto da campioni HAMA positivi, lipemici, ipercolesterolemici, emolizzati e di donne nel primo semestre di gravidanza. Non è stata osservata alcuna interazione con i fattori esaminati.

13.3.3. Reattività incrociata

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

13.4. Sensibilità analitica

Il limite di rilevazione di VDZ è inferiore a 2,5 ng/ml. Tenendo conto di un fattore di diluizione 1:100, questo corrisponde a 0,25 µg/ml.

13.5. Recupero

15 campioni negativi ad VDZ (5 campioni di siero negativi, 5 campioni di plasma con EDTA negativi e 5 campioni di plasma citrato negativi) sono stati addizionati a tre diverse concentrazioni di VDZ (6 µg/ml, 12 µg/ml e 40 µg/ml).

In base ai valori OD di questa misurazione, la concentrazione di VDZ è stata determinata utilizzando la curva standard e il recupero calcolato. Il recupero medio è del 98,1 %.

Campione	Nr.	VDZ (µg/ml)	Recupero (%)
Valore di riferimento 43,0 µg/ml			
Siero	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 con EDTA	6	41,5	96,5 %
	7	43,4	100,9 %
	8	44,5	103,5 %
	9	42,5	98,8 %

Campione	Nr.	VDZ ($\mu\text{g/ml}$)	Recupero (%)
	10	38,3	89,1 %
Plasma citrato	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 %
Valore di riferimento 10,2 $\mu\text{g/ml}$			
Siero	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 %
Plasma con EDTA	6	10,1	99,0 %
	7	9,8	96,1 %
	8	11,1	108,8 %
	9	10,0	98,0 %
	10	9,7	95,1 %
Plasma citrato	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 %
Valore di riferimento 6,5 $\mu\text{g/ml}$			
Siero	1	6,0	92,3 %
	2	5,7	87,7 %
	3	5,7	87,7 %
	4	6,4	98,5 %

Campione	Nr.	VDZ ($\mu\text{g/ml}$)	Recupero (%)
	5	6,9	106,2 %
Plasma con 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 citrato	11	6,4
12		6,2	95,4 %
13		7,4	113,8 %
14		5,7	87,7 %
15		6,8	104,6 %
Media			98,1 %

13.6. Correlazione con dosaggi di riferimento e sensibilità diagnostica

Un panel di campioni clinici di 17 campioni è stato analizzato utilizzando RIDASCREEN® VDZ Monitoring e i risultati sono stati confrontati con i dati ottenuti utilizzando un dosaggio di riferimento (KU di Lovanio). Il valore r di Pearson come indicatore per la correlazione tra entrambi i dosaggi è 0,98.










Tutti i campioni con livelli VDZ misurabili secondo il dosaggio di riferimento sono risultati positivi (16 campioni) con una sensibilità diagnostica del 100 %.

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e descrizione
2019-12-10	9.4. Prima incubazione

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

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

Simboli specifici del test

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

16. Bibliografia

1. 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.