

## RIDA® QUICK ADM Monitoring

**REF** GN3043



## 1. Zweckbestimmung

Für die *In-vitro*-Diagnostik. Dieser Test ist ein immunchromatographischer Lateral Flow-Test zum quantitativen Nachweis von Adalimumab (ADM, Humira®) in humanem Serum und Plasma.

## 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

### Therapeutisches Medikamenten-Monitoring

Adalimumab (ADM) ist ein humaner Antikörper, der gegen das pro-inflammatorische Zytokin TNF $\alpha$  gerichtet ist. Er wird zur Behandlung von chronisch-inflammatorischen Erkrankungen wie z. B. chronisch entzündlichen Darmerkrankungen (CED), rheumatoider Arthritis (RA) und Plaque-Psoriasis eingesetzt. Es wurde nachgewiesen, dass Adalimumab lang anhaltende Remissionen auslösen kann und die Lebensqualität von Patienten verbessert.<sup>[1]</sup> Bei einigen Patienten jedoch wirkt die ADM-Therapie nicht (primäre Nonresponder), bei anderen verliert sie im Laufe der Zeit ihre Wirksamkeit (sekundäre Nonresponder).<sup>[2]</sup>

Ein Medikament kann nur dann wirksam sein, wenn adäquate Konzentrationen im Blutkreislauf vorhanden sind. Für das therapeutische Medikamenten-Monitoring (TDM) wird die Serumkonzentration von ADM direkt vor der nächsten Infusion verwendet. Diese wird auch als Talspiegel-Konzentration bzw. trough concentration bezeichnet. Aktuelle Publikationen zu TDM haben gezeigt, dass eine Beziehung zwischen einer guten klinischen Wirksamkeit und einer adäquaten Talspiegel-Konzentration bei CED-<sup>[3]</sup> und RA-Patienten besteht. Dies ist ein Beleg dafür, dass TDM sehr wesentlich für die Behandlungsoptimierung ist und für das Überwinden einer sekundären Nonrespons genutzt werden kann.<sup>[4]</sup>

Im RIDA®QUICK ADM Monitoring wird ein hoch-spezifischer monoklonaler Antikörper (MA-ADM40D8), der bei der KU Leuven isoliert und charakterisiert wurde, verwendet.<sup>[5]</sup> Er detektiert ausschließlich Adalimumab (Humira®). Andere anti-TNF $\alpha$ -Medikamente (wie z. B. Infliximab oder Golimumab) zeigten keine Kreuzreaktivität.

### Chronisch entzündliche Darmerkrankungen

Induktionstherapie-Phase: Die Induktionstherapie von Adalimumab besteht aus einer subkutanen Dosis von 160 mg Adalimumab in Woche 0, gefolgt von 80 mg in Woche 2 und 40 mg jede Woche ab Woche 4.

Bei gutem klinischem Ansprechen in Woche 12 – 14 wird die Behandlung fortgesetzt.

Erhaltungstherapie-Phase: Es wurde gezeigt, dass Patienten unter einer Erhaltungstherapie mit gleichmäßigen Talspiegelkonzentrationen eher in Remission verbleiben als Patienten mit nicht nachweisbaren Talspiegelkonzentrationen.<sup>[6,7,8]</sup> Die regelmäßige Überprüfung der ADM- Talspiegelkonzentrationen während der Erhaltungstherapie-Phase kann nützlich sein, um die ADM-Behandlung zu überprüfen und wenn nötig anzupassen.

Patienten mit niedrigen oder nicht nachweisbaren Medikamentenkonzentrationen profitieren möglicherweise von einer Dosiserhöhung oder der Reduzierung des Intervalls, wohingegen das Intervall bei Patienten mit hohen ADM-Konzentrationen verlängert werden kann.<sup>[9,10]</sup> Für Adalimumab wird eine therapeutische Talspiegelkonzentration von 5 - 10 µg/ml empfohlen.<sup>[9]</sup>

### Immunogenität

Aufgrund des immunogenen Charakters des Medikaments entwickeln sich häufig Antikörper gegen das Medikament. Dies stellt auch die Ursache für einen sekundären Wirksamkeitsverlust dar.<sup>[6]</sup> Im Falle von nicht nachweisbaren Talspiegelkonzentrationen kann die anschließende Messung von Anti-Medikamenten-Antikörpern dabei unterstützen, eine hilfreiche Behandlungsstrategie zu bestimmen. Hierfür eignet sich der RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies (G09044).

### 3. Testprinzip

ADM wird durch die Ausbildung eines Antikörper-Antigen-Sandwichs mit MA-ADM40D8 und TNF $\alpha$  detektiert. Dieses wird durch die Verwendung von markierten kolloidalen Goldnanopartikeln sichtbar gemacht. Das so generierte Messsignal wird mit Hilfe des RIDA®QUICK SCAN II gemessen und anhand einer im Gerät hinterlegten Standardkurve in die ADM-Probenkonzentration umgerechnet.

### 4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung sind ausreichend für 25 Bestimmungen.

|                |         |  |
|----------------|---------|--|
| Cassette       | 1 Stück | 25 Testkassetten   |
| Sample diluent | 25 ml   | Probenverdünnungspuffer; enthält 0,09 % NaN <sub>3</sub> ; gebrauchsfertig |
| Reagent   A    | 2,5 ml  | Reagenz A; enthält 0,09 % NaN <sub>3</sub> ; gebrauchsfertig               |
| Reagent   B    | 2,5 ml  | Reagenz B; enthält 0,09 % NaN <sub>3</sub> ; gebrauchsfertig               |

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 4.1 Zusätzlich erhältliche Reagenzien

Kontrollen für den RIDA®QUICK ADM Monitoring können separat bestellt werden. Das RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set (Art. Nr. GP3043) beinhaltet zwei Kontrollen. Sie werden wie eine reguläre Probe verdünnt und eingesetzt und können zur Überprüfung der Testreagenzien und der Testdurchführung eingesetzt werden. Packungsinhalt von RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set:

High control

1,2 ml Chargenspezifische, hohe Positivkontrolle

Low control

1,2 ml Chargenspezifische, niedrige Positivkontrolle

## 5. Reagenzien und ihre Lagerung

Das Testkit muss bei 2 - 8 °C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Die Reagenzien sollten so kurz wie möglich bei Raumtemperatur verbleiben und nach Verwendung möglichst rasch wieder bei 2 - 8 °C gelagert werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Bei einer beschädigten Umverpackung kann die Verwendbarkeit der Testkassette nicht länger garantiert werden.

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

- Reaktionsgefäß
- Probenröhrchen für Probensuspension (zwei je Patientenproben)
- Mikropipetten mit Einwegspitzen 10 – 100 µl und 100 – 1000 µl
- Stoppuhr
- Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natrium-Hypochloritlösung
- RIDA®QUICK SCAN II (erhältlich über R-Biopharm AG, Art. Nr. ZRQS2-KD)
- Vortexer

## 7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die In-vitro-Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.

Reagenzien unterschiedlicher Lots dürfen nicht vermischt werden.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmal-Handschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In den Bereichen, in denen mit den Proben oder den Test-Reagenzien gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Die Reagenzien enthalten als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

In diesem Assay können Citrat-Plasma- sowie Serum-Proben verwendet werden.

Nach der Blutentnahme sollte zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum möglichst schnell vom Blutkuchen getrennt werden. Überführen Sie die Proben in ein sauberes Röhrchen.

Proben können für 3 - 4 Tage bei 2 - 8 °C, oder bei -20 °C für mindestens ein Jahr eingefroren, gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

## 9. Testdurchführung

### 9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind die Proben, der Probenverdünnungspuffer und Reagenz A und B, sowie die Teststreifen auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Einmal benutzte Teststreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden.

Überschüssiges Reagenz darf nicht wieder in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

Vor Testbeginn muss der RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II eingeschaltet werden. Die Testmethode muss beim ersten Verwenden mittels Barcode-Reader eingescannt werden und ist dann für weitere Messungen auf dem RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II gespeichert.

Außerdem müssen die lotspezifischen Parameter vor Testbeginn für jede Lot einmal eingescannt werden.

Die QR-Codes für die Testmethode und für die lotspezifischen Parameter befinden sich auf dem Analysenzertifikat, das dem Kit beiliegt (siehe auch RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II Handbuch).

### 9.2 Vorbereitung der Proben

#### 9.2.1 Verdünnung der Proben

Der Messbereich des RIDA<sup>®</sup>QUICK ADM Monitoring liegt bei 0,5 - 25 µg/ml. Verdünnen Sie zunächst 20 µl der Probe in 980 µl Probenverdünnungspuffer [Sample diluent] (1:50). Reaktionsansatz gut mischen. Entsprechend der Testdurchführung unter 9.2.2 wird die Probe anschließend nochmals 1:10 in Reagenz A /Reagenz B verdünnt, so dass man eine finale Verdünnung von 1:500 erhält (siehe 9.2.2).

#### 9.2.2 Probeninkubation

In einem weiteren Reaktionsgefäß werden 90 µl [Reagent | A] (blaue Flüssigkeit, Flasche mit blauem Deckel) mit 90 µl [Reagent | B] (gelbe Flüssigkeit, Flasche mit transparentem Deckel) gemischt. Bei Abarbeitung von mehreren Teststreifen kann die Lösung auch für mehrere Proben gleichzeitig angesetzt werden.

Das Gemisch aus [Reagent | A] (blaue Flüssigkeit) und [Reagent | B] (gelbe Flüssigkeit) ergibt eine grün gefärbte Lösung.

Zu den 180 µl des Gemischs von Reagenz A und B werden 20 µl der verdünnten Probe-Lösung hinzupipettiert, was einer weiteren Verdünnung der Probe von 1:10 entspricht (siehe 9.2.1.). So erhält man eine Endverdünnung der Ausgangsprobe von

1:500. Die Ansätze werden durch mehrfaches, kräftiges Invertieren oder Vortexen durchmischt, um den Probenansatz zu homogenisieren. Danach wird der Reaktionsansatz für **genau 5 Minuten** bei Raumtemperatur inkubiert.

### 9.3. Proben-Testung

Die der Umverpackung entnommene Testkassette Cassette wird auf eine ebene Unterlage gelegt. 100 µL des Probenansatzes aus dem Reaktionsgefäß von Schritt 9.2.2. werden in das Applikationsfeld des Teststreifens pipettiert.

Das Testergebnis ist immer nach **15 (+ max. 2) Minuten** mittels RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II auszulesen. Die Zeit muss genau eingehalten werden.

Die Färbung der Banden und deren Intensität können sich während der Gesamtentwicklungszeit und nach Trocknung des Streifens verändern und von rot bis blauviolett/grau variieren.

Das Messen vor oder nach Ablauf der **15 (+ max. 2) Minuten** kann zu einem verfälschten Ergebnis führen.

## 10. Qualitätskontrolle- Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn die Testkassette und Membran vor dem Einpipettieren der Probensuspension unversehrt sind und keine farbigen Veränderungen oder Banden darauf zu sehen sind. Die Kontrollbande (mit C auf der Testkassette gekennzeichnet) muss bei jedem Testlauf erscheinen. Fehlt diese Bande, sollte das Folgende vor Testwiederholung geprüft werden:

- Haltbarkeit der Testkassetten und der verwendeten Reagenzien
- Korrekte Testdurchführung
- Kontamination der Reagenzien

Ist bei Wiederholung des Tests mit einer anderen Testkassette die Kontrollbande wiederum nicht sichtbar, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

## 11. Auswertung und Interpretation

Die Auswertung erfolgt mit dem RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II (siehe auch RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II-Handbuch).

Die Kontrollbande (mit C auf der Testkassette gekennzeichnet) muss bei jedem Testlauf erscheinen. Sollte diese Bande fehlen, folgen Sie bitte den Anweisungen unter Kapitel 10.

Die Signalbande (mit T auf der Testkassette gekennzeichnet) erscheint je nach Adalimumabkonzentration in der Probe nach unterschiedlichen Laufzeiten und in unterschiedlichen Intensitäten. Erst nach einer Gesamtlaufzeit von 15 (+ max. 2 ) Minuten kann eine abschließende Quantifizierung des Testergebnisses durch das Lesegerät RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II erfolgen. Die Banden können sich während der

Gesamttestzeit und auch nach der Trocknung farblich verändern. Die Bandenfärbung kann hierbei von rot bis blauviolett/grau variieren.

Halten Sie sich bitte immer genauestens an die angegebenen Inkubationszeiten von 5 bzw. 15 Minuten.

## **12. Grenzen der Methode**

Der RIDA®QUICK ADM Monitoring detektiert den freien, funktionell aktiven ADM-Anteil und nicht jenen ADM-Anteil, der auf Grund der Immunogenität an anti-Adalimumab Antikörper gebunden vorliegt.

Individuelle Adalimumabkonzentrationen, die über den RIDA®QUICK ADM Monitoring bestimmt werden, können nicht als alleiniger Indikator für eine Änderung des Behandlungsschemas herangezogen werden. Außerdem sollte jeder Patient gründlich klinisch untersucht werden, bevor Änderungen am Behandlungsschema vorgenommen werden.

## 13. Leistungsmerkmale

### 13.1. Präzision

#### 13.1.1. Intra-Assay-Präzision

Die Intra-Assay-Präzision wurde mit 5 Referenzen in je 20 Replikaten getestet. Die ADM-Konzentrationen wurden mit dem RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II bestimmt und daraus die Mittelwerte (MW), die Standardabweichungen (SD) und die Variationskoeffizienten (VK) der Messungen für jede Probe errechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

| Referenz      | 1           | 2           | 3          | 4           | 5           |
|---------------|-------------|-------------|------------|-------------|-------------|
| MW (µg/ml)    | 2,32        | 5,72        | 8,88       | 14,32       | 25,72       |
| SD            | 0,39        | 0,70        | 0,76       | 1,50        | 3,03        |
| <b>VK (%)</b> | <b>16,8</b> | <b>12,2</b> | <b>8,5</b> | <b>10,4</b> | <b>11,8</b> |

#### 13.1.2. Inter-Assay-Präzision

Die Inter-Assay-Präzision wurde mit 5 Referenzen in je 40 Replikaten getestet. Die Tests wurden von 3 unterschiedlichen Operatoren an 10 verschiedenen Testtagen in 2 Läufen pro Tag (vormittags und nachmittags) durchgeführt. Die ADM-Konzentrationen wurden mit dem RIDA<sup>®</sup>QUICK SCAN II bestimmt und daraus die Mittelwerte (MW), die Standardabweichungen (SD) und die Variationskoeffizienten (VK) der Messungen für jede Probe errechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

| Referenz      | 1           | 2           | 3           | 4           | 5           |
|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| MW (µg/ml)    | 2,28        | 5,58        | 8,78        | 13,37       | 24,73       |
| SD            | 0,27        | 0,93        | 0,95        | 1,98        | 2,99        |
| <b>VK (%)</b> | <b>11,8</b> | <b>16,6</b> | <b>10,8</b> | <b>14,8</b> | <b>12,1</b> |

### 13.2. Analytische Sensitivität

Für die Bestimmung der analytischen Sensitivität wurden 4 Kontrollproben in je 3 Replikaten über drei Tage hinweg getestet.

Die Bestimmungsgrenze (LoQ) liegt bei 0,32 µg/ml ADM.



### 13.3. Spezifität – Interferenz

Das Vorliegen von Bilirubin (50 mg/l), Cholesterol (2,5 g/l), Triglyceriden (5 g/l) und Hämoglobin (200 mg/l) in den angezeigten Konzentrationen in humanen Serumproben zeigte keinen Effekt auf die Testergebnisse.

### 13.4. Wiederfindung

#### 13.4.1. Wiederfindung Humira®

3 Proben wurden mit jeweils 4 unterschiedlichen Humira®-Mengen versetzt und die ADM-Konzentrationen mit dem RIDA®QUICK SCAN II bestimmt.

Die mittlere Wiederfindung beträgt 101 %. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

| Probe             | [µg/ml] | Zugabe ADM [µg/ml] | Gemessener Wert [µg/ml] | Zielwert [µg/ml] | Wiederfindung (%) |
|-------------------|---------|--------------------|-------------------------|------------------|-------------------|
| 1                 | 2,54    | 15,20              | 16,41                   | 17,75            | 92                |
|                   |         | 3,80               | 7,06                    | 6,34             | 111               |
|                   |         | 13,30              | 16,17                   | 15,85            | 102               |
|                   |         | 9,50               | 11,92                   | 12,04            | 99                |
| <b>Mittelwert</b> |         |                    |                         | <b>101</b>       |                   |
| 2                 | 2,67    | 13,22              | 15,96                   | 15,88            | 100               |
|                   |         | 11,33              | 13,95                   | 13,99            | 100               |
|                   |         | 1,89               | 5,02                    | 4,55             | 110               |
|                   |         | 9,44               | 12,22                   | 12,11            | 101               |
| <b>Mittelwert</b> |         |                    |                         | <b>103</b>       |                   |
| 3                 | 2,62    | 17,03              | 18,38                   | 19,65            | 94                |
|                   |         | 5,68               | 8,81                    | 8,30             | 106               |
|                   |         | 9,46               | 12,38                   | 12,08            | 102               |
|                   |         | 7,57               | 10,44                   | 10,19            | 102               |
| <b>Mittelwert</b> |         |                    |                         | <b>101</b>       |                   |

### 13.4.2 Korrelation mit dem Referenz-Assay

79 ADM-positive Patientenproben im Konzentrationsbereich von 0,5 µg/ml bis 25 µg/ml wurden im RIDASCREEN® ADM Monitoring und RIDA®QUICK ADM Monitoring vermessen und die Konzentration bestimmt. Es wurde ein Korrelationskoeffizient von  $R^2 = 0,95$  berechnet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Abbildung dargestellt.

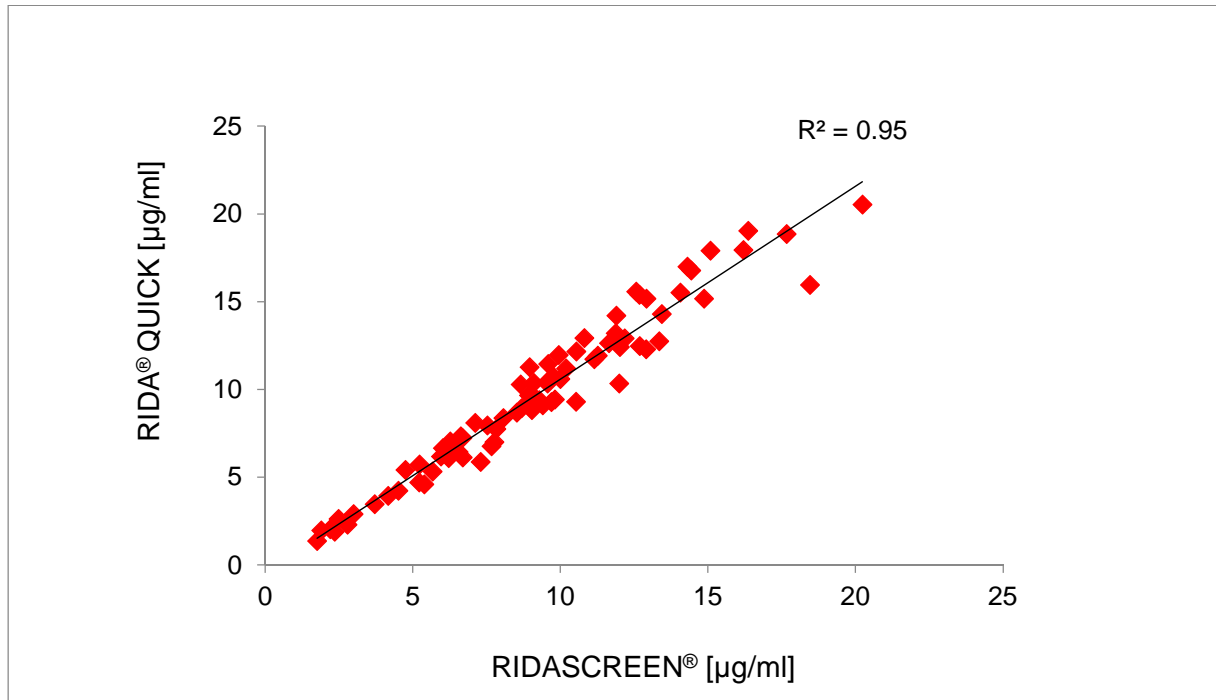











Abbildung 1. Der RIDA®QUICK ADM Monitoring zeigt eine sehr gute Korrelation ( $R^2=0.95$ ) zum RIDASCREEN® ADM Monitoring (n=79).

## 14. Versionsübersicht

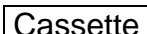
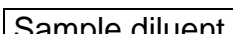
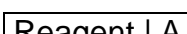
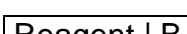
| Versionsummer | Kapitel und Bezeichnung |
|---------------|-------------------------|
| 2018-06-28    | Freigabeversion         |

## 15. Symbolerklärung

### Allgemeine Symbole

|   |                             |
|---|-----------------------------|
|    | In-vitro-Diagnostikum       |
|    | Gebrauchsanweisung beachten |
|    | Chargennummer               |
|    | Verwendbar bis              |
|    | Lagertemperatur             |
|    | Artikelnummer               |
|    | Anzahl Tests                |
|   | Herstelldatum               |
|  | Hersteller                  |

### Testspezifische Symbole

|   |                         |
|---|-------------------------|
|  | Testkassette            |
|  | Probenverdünnungspuffer |
|  | Reagenz A               |
|  | Reagenz B               |

## 16. Literatuur

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 Castele 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.