

RIDA® QUICK ADM Monitoring

REF GN3043



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. Esta prueba es un ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral para la detección cuantitativa de adalimumab (ADM, Humira®) en suero y plasma humanos.

2. Resumen y descripción del ensayo

Monitorización terapéutica de fármacos

Adalimumab (ADM) es un anticuerpo monoclonal completamente humano dirigido contra la citocina pro-inflamatoria TNF- α . El fármaco se usa para tratar enfermedades inflamatorias crónicas, como la enfermedad intestinal inflamatoria, la espondiloartritis y la psoriasis en placa. Se ha demostrado que adalimumab puede inducir la remisión a largo plazo y mejorar la calidad de vida del paciente. ^[1] En algunos pacientes, sin embargo, el tratamiento con ADM no funciona (no respondedores primarios) y en otros, pierde eficacia con el tiempo (no respondedores secundarios). ^[2]

Un fármaco sólo puede ser efectivo si las concentraciones en la sangre son adecuadas. La concentración en suero de adalimumab justo antes de la siguiente inyección, definida como la concentración mínima, se ha usado para la monitorización terapéutica de fármacos (MTF). Las publicaciones recientes de MTF muestran que existe una relación entre una buena eficacia clínica y una concentración mínima adecuada en pacientes con enfermedad intestinal inflamatoria^[3] y pacientes con artritis reumatoide. La MTF puede, por lo tanto, ser altamente instrumental para la optimización del tratamiento y para superar la pérdida de respuesta secundaria. ^[4]

RIDA®QUICK ADM Monitoring utiliza un anticuerpo monoclonal altamente específico (MA-ADM40D8, aislado y caracterizado en la Universidad Católica de Lovaina [Bélgica]). ^[5] Solo detecta adalimumab; otros fármacos anti-TNF, como infliximab y golimumab, no interfieren con la medición.

Enfermedad intestinal inflamatoria crónica

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

Fase de mantenimiento del tratamiento: Se ha demostrado que los pacientes que reciben tratamiento de mantenimiento y tienen una concentración mínima sostenida, tienen más probabilidades de permanecer en remisión que los pacientes con concentraciones mínimas no detectables. ^[6,7,8] La monitorización regular de las concentraciones mínimas de ADM durante la fase de mantenimiento del tratamiento puede ser útil para comprobar el tratamiento de ADM y ajustarlo si es necesario.

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

Inmunogenicidad

Debido al carácter inmunogénico del fármaco, con frecuencia aparecen anticuerpos dirigidos contra el fármaco. Esta es también la causa de la pérdida secundaria de respuesta.^[6] En caso de que las concentraciones mínimas sean indetectables, la determinación posterior de anticuerpos antifármaco puede ser útil para determinar una estrategia de tratamiento adecuada. RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies (G09044) se diseñó con este fin.

3. Principio del ensayo

ADM se detecta por la formación de un sándwich de antígeno-anticuerpo con MA-ADM40D8 y TNFα. Esto se visualiza mediante el uso de nanopartículas de oro coloidal marcadas. La señal generada se lee con el RIDA®QUICK SCAN II y la concentración de ADM se calcula con la curva estándar, que se almacena en el equipo.

4. Reactivos suministrados

Los reactivos del kit son suficientes para 25 determinaciones.

Cassette	1 unidad	25 casetes de prueba
Sample diluent	25 ml	Solución amortiguadora para dilución de muestras, contiene 0,09 % de NaN ₃ ; listo para usar
Reagent A	2,5 ml	Reactivo A; contiene 0,09 % de NaN ₃ ; listo para usar
Reagent B	2,5 ml	Reactivo B; contiene 0,09 % de NaN ₃ ; listo para usar

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.

4.1 Otros reactivos disponibles

Los controles para RIDA®QUICK ADM Monitoring se pueden pedir por separado. El juego de controles RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set (n.º de referencia GP3043) contiene dos controles. Estos controles se usan de la misma manera que las muestras de pacientes, y pueden usarse para comprobar los reactivos y la ejecución de la prueba.

Contenido de RIDA[®]QUICK ADM Monitoring Control Set:

High control	1,2 ml	Control positivo alto, específico del lote
Low control	1,2 ml	Control positivo bajo, específico del lote

5. Instrucciones de almacenamiento

El kit de la prueba debe almacenarse entre 2 °C y 8 °C y puede utilizarse hasta la fecha de vencimiento impresa. No deje los reactivos a temperatura ambiente durante ningún periodo de tiempo. Después de usarlos, almacénelos tan pronto como sea posible entre 2 °C y 8 °C. Después de la fecha de vencimiento, la garantía de calidad ya no es válida. Si el envase exterior está dañado, no se puede garantizar la validez del casete de prueba.

6. Reactivos necesarios no suministrados

- Tubo de reacción
- Tubos de ensayo para la suspensión de muestra (dos para cada muestra de paciente)
- Micropipetas con puntas desechables, 10 a 100 µl y 100 a 1000 µl
- Cronómetro
- Recipiente para residuos de laboratorio con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %
- RIDA[®]QUICK SCAN II (disponible en R-Biopharm AG, n.º de referencia ZRQS2-KD)
- Mezclador vórtex

7. Advertencias y precauciones para los usuarios

Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

Esta prueba 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 de la prueba.

No combine reactivos de kits con diferentes números de lote.

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 usan las muestras o los reactivos del ensayo.

Los reactivos contienen NaN₃ como conservador. Se debe impedir que esta sustancia entre en contacto con la piel o las membranas mucosas.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

En este ensayo pueden usarse muestras de plasma citratado y muestras de suero. Tras la obtención de sangre, debe separarse el suero del coágulo lo antes posible, para evitar la hemólisis. Transfiera las muestras a un tubo de almacenamiento limpio.

Las muestras pueden almacenarse entre 2 °C y 8 °C durante tres a cuatro días, o a -20 °C durante un año como mínimo. Deben evitarse los ciclos repetidos de congelación y descongelación.

9. Ejecución de la prueba

9.1. General

Las muestras, la solución amortiguadora para dilución de muestras, los reactivos A y B, y las tiras de prueba deben alcanzar la temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de usarlos. Una vez usadas, las tiras de prueba no deben volver a usarse. No realice la prueba bajo la luz solar directa. Los reactivos sobrantes no deben devolverse a los recipientes porque pueden producir contaminación.

El RIDA®QUICK SCAN II debe encenderse antes de comenzar la prueba. Para el primer uso, es necesario escanear el método de prueba con el lector de códigos de barras y almacenarlo después para las mediciones posteriores en el RIDA®QUICK SCAN II.

Los parámetros específicos del lote también deben escanearse una vez para cada lote antes del inicio de la prueba.

Los códigos QR del método de prueba y de los parámetros específicos del lote se encuentran en el certificado de análisis incluido con el kit (consulte también el Manual de RIDA®QUICK SCAN II).

9.2 Preparación de las muestras

9.2.1 Dilución de las muestras

El intervalo de medición de RIDA®QUICK ADM Monitoring es de 0,5 a 25 µg/ml. Primero, diluya 20 µl de muestra en 980 µl de la solución amortiguadora para dilución de muestras [Sample diluent] (1:50). Mezcle el pocillo de reacción. De acuerdo con la ejecución de la prueba descrita en 9.2.2, vuelva a diluir la muestra después 1:10 en Reactivo A/Reactivo B para obtener una dilución final de 1:500 (consulte 9.2.2).

9.2.2 Incubación de la muestra

En un vial de reacción aparte, mezcle 90 µl de [Reagent | A] (líquido azul, frasco con tapa azul) y 90 µl de [Reagent | B] (líquido amarillo, frasco con tapa transparente). Si se van a procesar varias tiras de prueba, la solución también se puede usar para varias muestras a la vez.

La mezcla de **Reagent | A** (líquido azul) y **Reagent | B** (líquido amarillo) produce una solución de color verde.

Pipetee 20 µl de la solución de muestra diluida en los 180 µl de la mezcla de reactivos A y B, lo que equivale a una dilución 1:10 adicional de la muestra (consulte 9.2.1.). Esto produce una dilución final 1:500 de la muestra inicial. Mezcle bien las soluciones por inversión o en el agitador vórtex para homogeneizar la mezcla de la muestra.

A continuación, incube la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante exactamente **5 minutos**.

9.3. Análisis de la muestra

Extraiga el casete de prueba **Cassette** del envase y colóquelo sobre una superficie plana. Pipetee 100 µl de la preparación de la muestra del tubo de reacción del paso 9.2.2 en el pocillo de muestra del casete de prueba.

El resultado de la prueba debe leerse siempre después de **15 minutos (+ 2 min. máximo)** con el RIDA[®]QUICK SCAN II. Los tiempos deben cumplirse exactamente. La aparición del color de las líneas puede cambiar durante todo el tiempo del proceso y después del secado. El color de las líneas puede variar de rojo a azul-violeta/gris a medida que la tira se seque.

Las mediciones realizadas antes o después de que finalicen los **15 minutos (+ 2 min. máximo)** de incubación pueden dar lugar a resultados incorrectos.

10. Control de calidad - indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

Solo se puede evaluar una prueba si el casete de prueba no ha sufrido daños, y no hay cambios de color ni líneas presentes antes de aplicar la suspensión de muestra. La banda de control (marcada como C en el casete de prueba) debe aparecer cada vez que se ejecute la prueba. Si no aparece esta banda, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir la prueba.

- La fecha de caducidad de los reactivos y el casete de prueba utilizados.
- La ejecución correcta de la prueba.
- La contaminación de los reactivos.

Si la banda de control sigue sin aparecer después de repetir el ensayo con un casete de prueba diferente, póngase en contacto con el fabricante o con el distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

La lectura se lleva a cabo en el RIDA[®]QUICK SCAN II (consulte también el manual de RIDA[®]QUICK SCAN II).

La banda de control (marcada con una C en el casete de prueba) debe aparecer cada vez que se ejecute la prueba. Si no aparece esta banda, siga las instrucciones correspondientes del capítulo 10.

Dependiendo de la concentración de adalimumab en las muestras, la banda de señal (marcada con una T en el casete de prueba) puede aparecer después de diferentes tiempos y con diferente intensidad. El resultado final del ensayo solo se puede determinar después del tiempo total del ensayo de 15 minutos (+ 2 min. máximo) con el RIDA[®]QUICK SCAN II. El color de las bandas puede cambiar durante el tiempo total de la prueba y después del secado. Las bandas pueden cambiar durante el tiempo total de incubación y también pueden cambiar después del secado. El color de la banda puede variar de rojo a azul-violeta/gris.

12. Limitaciones del método

La prueba RIDA[®]QUICK ADM Monitoring detecta la proporción de ADM libre funcionalmente activo y no la proporción de ADM unido a anticuerpos anti-adalimumab debido a la inmunogenicidad.

Las concentraciones individuales de adalimumab medidas con la prueba RIDA[®]QUICK ADM Monitoring 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. Precisión

13.1.1 Precisión intraensayo

La precisión intraensayo se determinó usando 5 referencias en 20 réplicas cada una. Las concentraciones de ADM se determinaron con el RIDA[®]QUICK SCAN II, y se calcularon los valores medios (VM), las desviaciones 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	5
VM (µg/ml)	2,32	5,72	8,88	14,32	25,72
DE	0,39	0,70	0,76	1,50	3,03
CV (%)	16,8	12,2	8,5	10,4	11,8

13.1.2 Precisión interensayo

La precisión interensayo se determinó usando 5 referencias en 40 réplicas cada una. Tres usuarios diferentes realizaron las pruebas en 10 días de prueba diferentes, con dos ensayos cada día (mañana y tarde). Se determinaron las concentraciones de ADM con el RIDA[®]QUICK SCAN II, y se calcularon los valores medios (VM), las desviaciones 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	5
VM (µg/ml)	2,28	5,58	8,78	13,37	24,73
DE	0,27	0,93	0,95	1,98	2,99
CV (%)	11,8	16,6	10,8	14,8	12,1

13.2. Sensibilidad analítica

Para determinar la sensibilidad analítica, se analizaron cuatro muestras control en tres réplicas cada una.

El límite de cuantificación (LC) es de 0,32 µg/ml de ADM.

13.3. Especificidad - Interferencia

La presencia de bilirrubina (50 mg/l), colesterol (2,5 g/l), triglicéridos (5 g/l) y hemoglobina (200 mg/l) a las concentraciones mostradas en muestras de suero humanas no tuvo ningún efecto sobre los resultados de la prueba.

13.4. Tasa de detección

13.4.1 Tasa de detección para Humira®

Se mezclaron tres muestras con cada una de las cuatro diferentes cantidades de Humira® y se determinaron las concentraciones de ADM con el RIDA®QUICK SCAN II.

La tasa de detección media fue de 101 %. Los resultados se indican en la siguiente tabla.

Muestra	[µg/ml]	ADM agregado [µg/ml]	Valor medido [µg/ml]	Valor objetivo [µg/ml]	Recuperación (%)
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
Valor medio					101
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
Valor medio					103
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
Valor medio					101

13.4.2 Correlación con el ensayo de referencia

Se midieron setenta y nueve muestras de pacientes positivas para ADM con concentraciones entre 0,5 µg/ml y 25 µg/ml con RIDASCREEN® ADM Monitoring y RIDA®QUICK ADM Monitoring, y se determinó la concentración. El coeficiente de correlación calculado fue $R^2 = 0,95$. Los resultados se muestran en la siguiente figura.

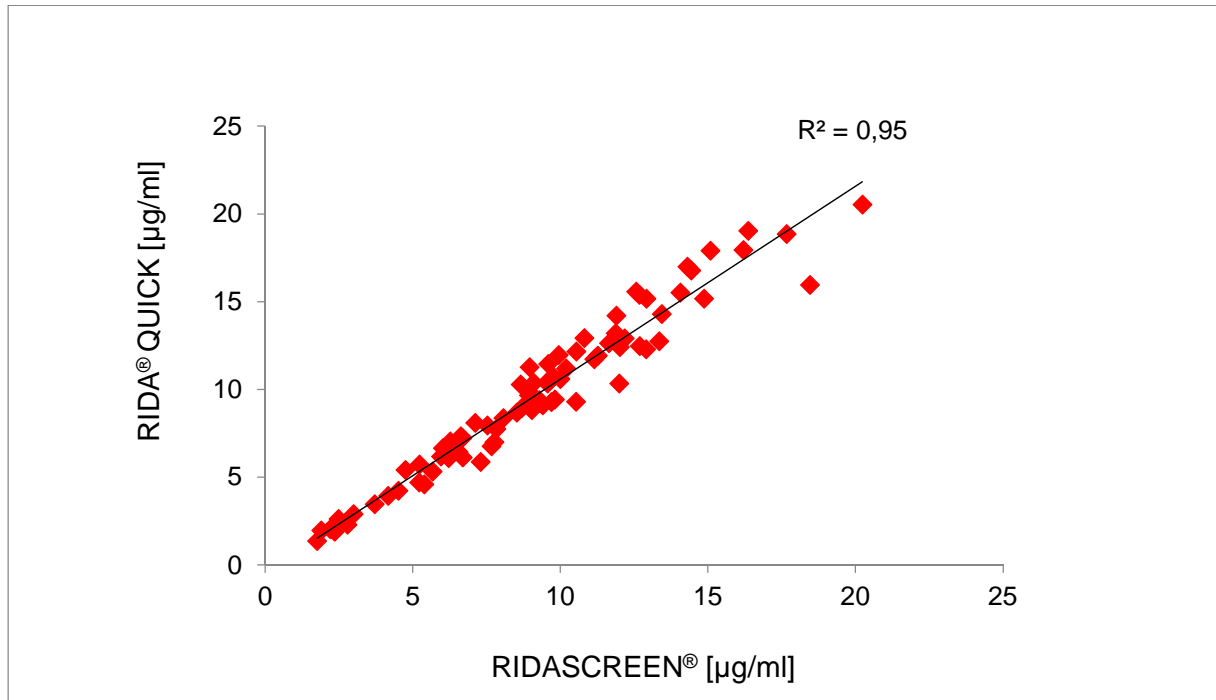











Figura 1. RIDA®QUICK ADM Monitoring mostró una excelente correlación ($R^2 = 0,95$) con RIDASCREEN® ADM Monitoring (n = 79).

14. Historial de versiones

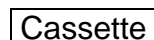
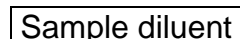
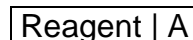

Número de versión	Capítulo y designación
2018-06-28	Versión de lanzamiento

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos de prueba

	Casete de prueba
	Solución amortiguadora para dilución de muestras
	Reactivo A
	Reactivo B

16. Bibliografía

1. Vogelaar L, Spijker AV, van der Woude CJ. The impact of biologics on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol* 2009;2:101-109.
2. Yanai H, Hanauer SB. Assessing response and loss of response to biological therapies in IBD. *Am J Gastroenterol* 2011;106:685-698.
3. Vermeire S, Gils A. Value of drug level testing and antibody assays in optimising biological therapy. *Frontline Gastroenterol* 2013;4:41-43.
4. Restellini S, Chao CY, Lakatos PL, et al. Therapeutic drug monitoring guides the management of Crohn's patients with secondary loss of response to adalimumab. *Inflamm Bowel Dis.* 2018;24:1531-1538.
5. Bian S, Van Stappen T, Baert F, et al. Generation and characterization of a unique panel of anti-adalimumab specific antibodies and their application in therapeutic drug monitoring assays. *J Pharm Biomed Anal* 2016;125:62-67.
6. Vande Casteele N, Ballet V, Van Assche G, et al. Early serial trough and antidrug antibody level measurements predict clinical outcome of infliximab and adalimumab treatment. *Gut* 2012;321;author reply 322.
7. Baert F, Vande Casteele N, Tops S, Noman M, Van Assche G, Rutgeerts P, Gils A, Vermeire S, Ferrante M. Prior response to infliximab and early serum drug concentrations predict effects of adalimumab in ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther.* 2014 :40(11-12):1324-32.
8. Vande Casteele N, Gils A. Pharmacokinetics of anti-TNF monoclonal antibodies in inflammatory bowel disease: Adding value to current practice. *J Clin Pharmacol.* 2015;55:S39-S50.
9. Papamichael K, Cheifetz A. Use of anti-TNF drug levels to optimize patient management. *Frontline Gastroenterol* 2016;7:289-300.
10. Vande Casteele N, Feagan BG, Gils A, Vermeire S, Khanna R, Sandborn WJ, Levesque BG. Therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: current state and future perspectives. *Curr Gastroenterol Rep* 2014;16:378.