

RIDA® QUICK ADM Monitoring

REF GN3043



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Ce test est un dosage immunochromatographique pour la détermination quantitative d'adalimumab (ADM, Humira®) dans le sérum et le plasma humains.

2. Résumé et explication du test

Suivi thérapeutique pharmacologique

L'adalimumab (ADM) est un anticorps monoclonal entièrement humain qui cible la cytokine TNF- α pro inflammatoire. Ce médicament est utilisé pour traiter les maladies inflammatoires chroniques telles que les maladies inflammatoires de l'intestin, la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite et le psoriasis en plaques. Il a été démontré que l'adalimumab pouvait induire une rémission à long terme et améliorer la qualité de vie des patients^[1]. Cependant, certains patients ne répondent pas au traitement par ADM (non-répondants primaires), tandis que pour d'autres, la réponse se perd au fil du temps (non-répondants secondaires)^[2].

Un médicament ne peut être efficace que si sa concentration dans le sang est adéquate. La concentration sérique d'adalimumab juste avant l'injection suivante, définie comme la concentration minimale, doit être utilisée pour le suivi thérapeutique pharmacologique (STP). Des publications récentes sur le STP ont démontré qu'il existe un lien entre une bonne efficacité clinique et une concentration minimale adéquate chez les patients atteints de maladies inflammatoires de l'intestin^[3] et de polyarthrite rhumatoïde. Le STP peut donc être essentiel pour optimiser le traitement et pallier la perte de réponse secondaire^[4].

RIDA®QUICK ADM Monitoring utilise un anticorps monoclonal très spécifique (MA-ADM40D8) isolé et caractérisé à la KU Leuven^[5]. Il détecte uniquement l'adalimumab ; d'autres médicaments anti-TNF comme l'infliximab et le golimumab, n'interfèrent pas avec la mesure.

Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

Phase de traitement d'induction : Le traitement d'induction par adalimumab consiste en une dose sous-cutanée de 160 mg la semaine 0, suivie de 80 mg la semaine 2 et de 40 mg à partir de la semaine 4. Si une bonne réponse clinique est obtenue aux semaines 12 à 14, le traitement est poursuivi (entretien).

Phase de traitement d'entretien : Il a été démontré que les patients sous traitement d'entretien à des concentrations minimales soutenues ont plus de chances de rester en rémission que ceux dont les concentrations minimales sont indétectables^[6,7,8]. Un contrôle régulier des concentrations minimales d'ADM pendant la phase de traitement d'entretien peut être utile pour vérifier le traitement par ADM et l'ajuster, si nécessaire.

Les patients dont les concentrations médicamenteuses sont faibles ou indétectables peuvent bénéficier d'une augmentation de dose ou d'un raccourcissement de

l'intervalle, tandis que chez les patients présentant de très hautes concentrations d'ADM, l'intervalle peut être prolongé sans risque^[9,10]. Dans le cas de l'adalimumab, il est recommandé d'obtenir une plage de concentrations minimales thérapeutiques de 5 à 10 µg/ml^[9].

Immunogénicité

Du fait de l'immunogénicité du médicament, des anticorps ciblant le médicament se développent souvent. C'est aussi l'une des raisons de la perte de réponse secondaire^[6]. Par conséquent, lorsque les concentrations minimales d'adalimumab sont très faibles, la mesure des anticorps anti-médicament peut aider à déterminer une stratégie de traitement appropriée. Les anticorps RIDASCREEN® Anti-ADM (G09044) sont conçus à cet effet.

3. Principe du test

L'ADM est détecté grâce à la formation d'un sandwich anticorps-antigène de MA-ADM40D8 et de TNF α . Il est rendu visible grâce à l'utilisation de nanoparticules d'or colloïdal marquées. Le signal généré est lu à l'aide du RIDA®QUICK SCAN II et la concentration d'ADM est calculée en utilisant la courbe standard qui est enregistrée dans l'instrument.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 25 déterminations.

Cassette	1 unité	25 cassettes de test
Sample diluent	25 ml	Tampon de dilution d'échantillon ; contient du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Reagent A	2,5 ml	Réactif A ; contient du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Reagent B	2,5 ml	Réactif B ; contient du NaN ₃ à 0,09 % ; prêt à l'emploi

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.

4.1 Réactifs supplémentaires disponibles

Les contrôles pour RIDA®QUICK ADM Monitoring peuvent être commandés séparément. L'ensemble de contrôles RIDA®QUICK ADM Monitoring (Réf. GP3043) contient deux contrôles. Ces contrôles sont utilisés de la même façon que les échantillons de patients et peuvent être utilisés pour contrôler les réactifs de test et la réalisation du test.

Contenu de l'ensemble de contrôles RIDA®QUICK ADM Monitoring :

High control	1,2 ml	Contrôle positif élevé, spécifique au lot
Low control	1,2 ml	Contrôle positif bas, spécifique au lot

5. Instructions de conservation des réactifs

Le kit de test doit être entreposé entre 2 et 8 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Ne pas laisser les réactifs à température ambiante pendant trop longtemps. Après utilisation, les stocker le plus rapidement possible entre 2 et 8 °C. Après la date de péremption, leur qualité n'est plus garantie. La validité de la cassette de test ne peut être garantie si l'emballage extérieur est endommagé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

- Tube de réaction
- Tubes à essai pour suspension de l'échantillon (deux par échantillon de patient)
- Micropipettes avec embouts jetables de 10 à 100 µl et de 100 à 1000 µl
- Chronomètre
- Conteneurs de déchets avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %
- RIDA®QUICK SCAN II (disponible auprès de R-Biopharm AG, réf. ZRQS2-KD)
- Agitateur-mélangeur vortex

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le 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 de réactifs issus de trousse portant des numéros de lot différents. 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.

Les réactifs contiennent du NaN_3 comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Pour ce test, il est possible d'utiliser des échantillons de plasma citratés et des échantillons de sérum. Après prélèvement de sang, le sérum doit être séparé du caillot dès que possible pour éviter l'hémolyse. Transférer les échantillons dans un tube de stockage propre.

Conserver les échantillons à une température comprise 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.

9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

Les échantillons, le tampon de dilution de l'échantillon, les réactifs A et B et les bandelettes de test doivent être portés à température ambiante (20 - 25 °C) avant utilisation. Ne pas réutiliser les bandelettes de test une fois utilisées. Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Ne pas remettre l'excès de réactifs dans les cuves à cause du risque de contamination.

Avant de démarrer le test, mettre le RIDA[®]QUICK SCAN II sous tension. Lors de la première utilisation, la méthode de test doit être scannée à l'aide d'un lecteur de code-barres, puis conservée pour de futures mesures sur le RIDA[®]QUICK SCAN II. Les paramètres spécifiques aux lots doivent aussi être scannés une fois par lot avant de démarrer le test.

Les codes QR de la méthode de test et les paramètres spécifiques aux lots sont contenus dans le certificat d'analyse inclus dans la trousse (voir aussi le manuel RIDA[®]QUICK SCAN II).

9.2 Préparation des échantillons

9.2.1 Dilution des échantillons

La plage de mesure du RIDA[®]QUICK ADM Monitoring est comprise entre 0,5 et 25 µg/ml. Diluer d'abord 20 µl d'échantillon dans 980 µl de diluant d'échantillon [Sample diluent] (1:50). Bien mélanger le contenu du puits de réaction. Conformément à la procédure de test exposée au paragraphe 9.2.2, diluer à nouveau l'échantillon à 1:10 dans le réactif A/réactif B pour obtenir une dilution finale de 1:500 (voir 9.2.2).

9.2.2 Incubation des échantillons

Dans un autre flacon de réaction, mélanger 90 µl de [Reagent | A] (liquide bleu, flacon à couvercle bleu) et 90 µl de [Reagent | B] (liquide jaune, flacon à couvercle transparent). Si plusieurs bandelettes de test sont analysées, la solution peut aussi être utilisée pour plusieurs échantillons simultanément.

Le mélange de [Reagent | A] (liquide bleu) et de [Reagent | B] (liquide jaune) permet d'obtenir une solution de couleur verte.

Pipeter 20 µl de la solution d'échantillon dilué dans les 180 µl du mélange des réactifs A et B, ce qui équivaut à diluer encore l'échantillon de 1:10 (voir 9.2.1). On obtient ainsi une dilution finale de 1:500 de l'échantillon de départ. Bien mélanger les solutions en les inversant ou en les passant au vortex afin de les homogénéiser.

Incuber ensuite le mélange de réactifs à température ambiante pendant **5 minutes** exactement.

9.3 Analyse des échantillons

Retirer la cassette de test Cassette de l'emballage et la placer sur une surface plane. 100 µl de la préparation d'échantillon du tube de réaction de l'étape 9.2.2 sont pipetés dans le puits d'échantillon de la cassette de test.

Le résultat du test doit toujours être relevé **15 (+ max. 2) minutes** après à l'aide du RIDA[®]QUICK SCAN II. Le délai doit être strictement respecté.

La coloration des bandes peut évoluer au cours de la procédure et après le séchage. La couleur des bandes peut varier et passer de rouge à bleu-violet/gris au fur et à mesure du séchage.

Toute mesure relevée avant ou après la fin des **15 (+ max. 2) minutes** d'incubation peut générer de mauvais résultats.

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

Le test ne peut être évalué que si la cassette de test est intacte et ne présente ni lignes ni changement de couleur avant application de la suspension d'échantillon. La bande de contrôle (indiquée par la lettre C sur la cassette de test) doit apparaître à chaque exécution du test. Dans l'éventualité où cette bande n'apparaîtrait pas, les éléments suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs et de la cassette de test utilisés
- Réalisation du test correcte
- Contamination des réactifs

Si la bande de contrôle n'est toujours pas visible après avoir renouvelé le test avec une autre cassette de test, contacter le fabricant ou votre distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

La lecture est effectuée sur le RIDA[®]QUICK SCAN II (voir également le manuel du RIDA[®]QUICK SCAN II).

La bande de contrôle (indiquée par la lettre C sur la cassette de test) doit apparaître à chaque exécution du test. Si cette bande est absente, suivre les instructions de la section 10.

La bande de test (indiquée par la lettre T sur la cassette de test) apparaît en fonction de la concentration d'adalimumab de l'échantillon après différentes durées d'incubation et avec différentes intensités. Ce n'est qu'après la durée totale d'exécution de 15 (+ max. 2) minutes que le résultat du test final peut être déterminé à l'aide du RIDA[®]QUICK SCAN II. Les bandes peuvent changer de couleur pendant la durée du test et après séchage. Les bandes peuvent changer au fil du temps

d'incubation total et après le séchage. La couleur de la bande peut varier et passer de rouge à bleu-violet/gris.

12. Limites de la méthode

Du fait de son immunogénicité, le test RIDA[®]QUICK ADM Monitoring détecte la partie libre et fonctionnellement active de l'ADM et non la partie de l'ADM qui est liée aux anticorps anti-adalimumab.

Des concentrations individuelles d'adalimumab, mesurées à l'aide du test RIDA[®]QUICK ADM Monitoring, ne suffisent pas pour indiquer des changements dans le schéma posologique. Il convient d'évaluer cliniquement chaque patient avant de procéder à des changements dans le schéma posologique.

13. Performances

13.1 Précision

13.1.1 Précision intra-essai

La précision intra-essai a été testée à l'aide de 5 références étudiées en 20 répétitions. Les concentrations en ADM ont été déterminées en utilisant RIDA[®]QUICK SCAN II et les valeurs moyennes (VM), les écarts-types (ET) et les coefficients de variation (CV) des mesures ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Référence	1	2	3	4	5
VM (µg/ml)	2,32	5,72	8,88	14,32	25,72
ET	0,39	0,70	0,76	1,50	3,03
CV (%)	16,8	12,2	8,5	10,4	11,8

13.1.2 Précision inter-essai

La précision inter-essai a été déterminée à l'aide de 5 références étudiées en 40 répétitions. Les tests ont été effectués par trois opérateurs différents pendant 10 jours avec 2 passages par jour (matin et après-midi). Les concentrations en ADM ont été déterminées en utilisant RIDA[®]QUICK SCAN II et les valeurs moyennes (VM), les écarts-types (ET) et les coefficients de variation (CV) des mesures ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Référence	1	2	3	4	5
VM (µg/ml)	2,28	5,58	8,78	13,37	24,73
ET	0,27	0,93	0,95	1,98	2,99
CV (%)	11,8	16,6	10,8	14,8	12,1

13.2 Sensibilité analytique

Pour déterminer la sensibilité analytique, quatre échantillons de contrôle ont été étudiés sur trois jours en trois répétitions.

La limite de quantification (LQ) est de 0,32 µg/ml d'ADM.

13.3 Spécificité – Interférences

La présence dans les échantillons de bilirubine (50 mg/l), de cholestérol (2,5 g/l), de triglycérides (5 g/l) et d'hémoglobine (200 mg/l) dans les concentrations indiquées dans le sérum humain n'a eu aucun effet sur les résultats.

13.4 Valeur de détection

13.4.1 Valeur de détection pour Humira®

Trois échantillons ont été mélangés à chacune des quatre quantités différentes d'Humira®. Les concentrations en ADM ont été déterminées à l'aide du RIDA®QUICK SCAN II.

La valeur de détection moyenne est de 101 %. Les résultats sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Échantillon	[µg/ml]	ADM ajouté [µg/ml]	Valeur mesurée [µg/ml]	Valeur cible [µg/ml]	Récupération (%)
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
Valeur moyenne					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
Valeur moyenne					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
Valeur moyenne					101

13.4.2 Corrélation avec le test de référence

Soixante-dix-neuf échantillons de patients positifs à l'ADM ayant des concentrations comprises entre 0,5 et 25 µg/ml ont été mesurés à l'aide de RIDASCREEN® ADM Monitoring et de RIDA®QUICK ADM Monitoring, et la concentration a été déterminée. Le coefficient de corrélation calculé était $R^2 = 0,95$. Les résultats sont indiqués dans la figure suivante.

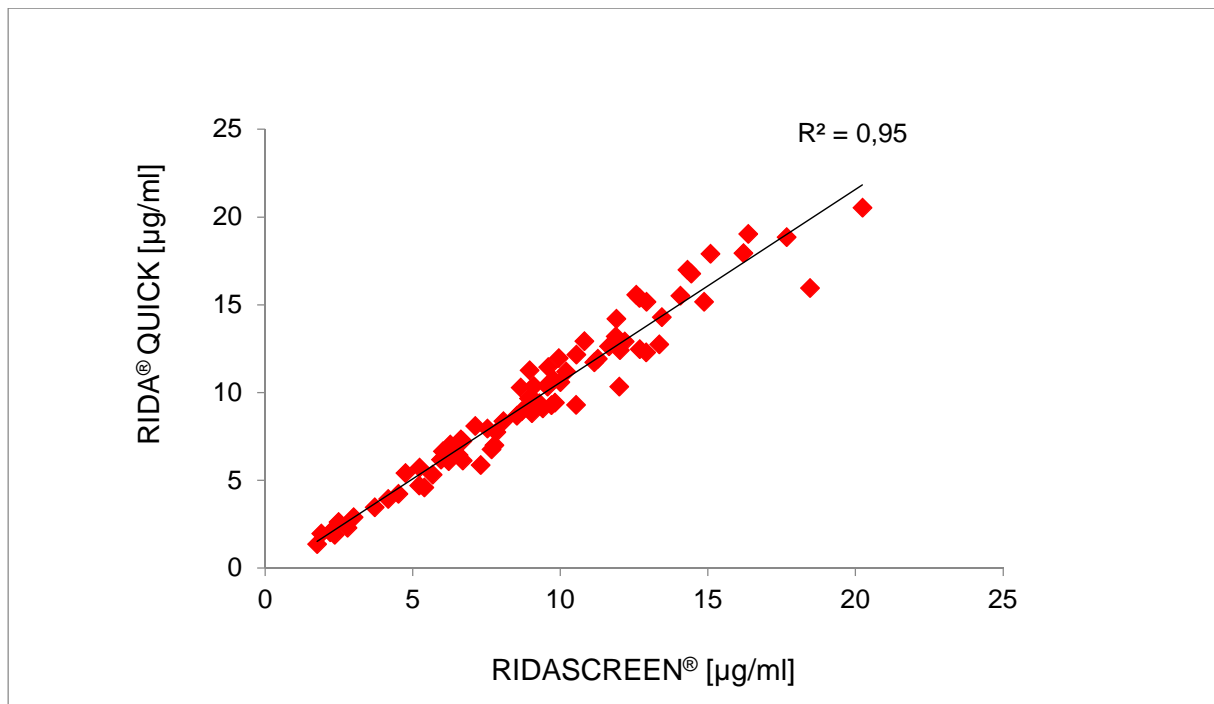











Figure 1. Le RIDA® QUICK ADM Monitoring montre une très bonne corrélation ($R^2 = 0,95$) avec RIDASCREEN® ADM Monitoring ($n = 79$).

14. Historique des versions




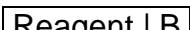
Numéro de version	Chapitre et designation
2018-06-28	Version pour la publication

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

	Cassette de test
	Diluant d'échantillon
	Réactif A
	Réactif B

16. Bibliographie

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.