

RIDA® QUICK ADM Monitoring

REF GN3043



1. Campo di applicazione

Per uso diagnostico *in vitro*. Questo test è un dosaggio immunocromatografico a flusso laterale per la determinazione quantitativa di adalimumab (ADM, Humira®) nel siero e nel plasma umano.

2. Sintesi e spiegazione del test

Monitoraggio terapeutico del farmaco

Adalimumab (ADM) è un anticorpo monoclonale interamente umano diretto contro la citochina proinfiammatoria TNF α . Il medicinale viene utilizzato per il trattamento delle malattie infiammatorie croniche come la malattia infiammatoria intestinale, l'artrite reumatoide, la spondiloartrite e la psoriasi a placche. È stato dimostrato che adalimumab induce la remissione a lungo termine e migliora la qualità di vita del paziente. ^[1] In alcuni pazienti, tuttavia, il trattamento con ADM non funziona (non-responder primari); in altri, perde la sua efficacia nel tempo (non-responder secondari). ^[2]

Un medicinale può essere efficace solo in presenza di adeguate concentrazioni nel sangue. La concentrazione sierica di adalimumab appena prima dell'iniezione successiva, definita come concentrazione minima, è stata utilizzata per il monitoraggio terapeutico del farmaco (TDM). Pubblicazioni attuali sul TDM hanno evidenziato l'esistenza di una correlazione tra una buona efficacia clinica e una concentrazione minima adeguata nei pazienti affetti da malattia infiammatoria intestinale ^[3] e da artrite reumatoide. Il TDM può pertanto essere determinante per ottimizzare il trattamento e per superare la perdita di risposta secondaria. ^[4]

RIDA®QUICK ADM Monitoring utilizza un anticorpo monoclonale altamente specifico (MA-ADM40D8, isolato e caratterizzato alla KU di Lovanio). ^[5] Rileva solo adalimumab; altri farmaci anti-TNF come infliximab o golimumab non interferiscono con la misurazione.

Malattie intestinali infiammatorie croniche

Fase di induzione della terapia: La terapia di induzione con adalimumab è costituita da una somministrazione sottocutanea di 160 mg alla settimana 0, seguita da 80 mg alla settimana 2 e da 40 mg a settimane alterne a partire dalla settimana 4 in poi. In caso di una buona risposta clinica alla settimana 12 - 14, il trattamento viene continuato (mantenimento).

Fase di mantenimento della terapia: è stato dimostrato che i pazienti in terapia di mantenimento con concentrazioni minime costanti hanno maggiori probabilità di rimanere in remissione rispetto ai pazienti con concentrazioni minime non rilevabili. ^[6,7,8] Il regolare monitoraggio delle concentrazioni minime di ADM durante la terapia di mantenimento può essere utile per controllare il trattamento con ADM e apportare aggiustamenti, se necessario.

I pazienti con concentrazioni basse o non rilevabili del farmaco possono beneficiare di un aumento della dose o di un accorciamento dell'intervallo, mentre l'intervallo nei pazienti con concentrazioni molto elevate di ADM può essere prolungato in modo sicuro. [9,10] Per adalimumab, è stato raccomandato un intervallo di concentrazione minima terapeutica target di 5 - 10 µg/ml. [9]

Immunogenicità

A causa del suo carattere immunogenico, si sviluppano spesso anticorpi contro il farmaco. Questo è anche il motivo della perdita di risposta secondaria. [6] In caso di concentrazioni minime non rilevabili, la successiva misurazione di anticorpi anti-farmaco può essere utile per stabilire una strategia terapeutica idonea. RIDASCREEN® Anti-ADM Antibodies (G09044) è concepito a tale scopo.

3. Principio del test

ADM viene rilevato attraverso la formazione di un complesso a sandwich anticorpo-antigene con MA-ADM40D8 e TNF α reso visibile dall'uso di nanoparticelle di oro colloidale marcate. Il segnale generato viene letto con RIDA®QUICK SCAN II e la concentrazione di ADM viene calcolata utilizzando la curva standard che è memorizzata nello strumento.

4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 25 determinazioni.

Cassette	1 confezione	25 cassette
Sample diluent	25 ml	Tampone di diluizione del campione, contiene lo 0,09% di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Reagent A	2,5 ml	Reagente A; contiene lo 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso
Reagent B	2,5 ml	Reagente B; contiene lo 0,09 % di NaN ₃ ; pronto per l'uso

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.

4.1 Reagenti disponibili, ma non in dotazione

I controlli per RIDA®QUICK ADM Monitoring possono essere ordinati separatamente. RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set (Art. N. GP3043) contiene due controlli. Essi sono utilizzati come i campioni da paziente e possono essere impiegati per verificare i reagenti e la procedura di esecuzione del test. Contenuto di RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set:

High control	1,2 ml	specifico del lotto, controllo positivo alto
Low control	1,2 ml	specifico del lotto, controllo positivo basso

5. Istruzioni di conservazione

Il kit del test deve essere conservato a 2 - 8 °C e utilizzato fino alla data di scadenza stampata. Non lasciare mai i reagenti a temperatura ambiente, a prescindere dalla durata. Dopo l'uso, riporli il più rapidamente possibile a 2 - 8 °C. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida. Se l'imballaggio esterno è danneggiato, la fruibilità delle cassette non può essere garantita.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

- Provetta di reazione
- Provette per la sospensione del campione (due per ogni campione del paziente)
- Micropipette con puntali monouso, 10 - 100 µl e 100 - 1000 µl
- Cronometro
- Contenitore per rifiuti con soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %
- RIDA[®]QUICK SCAN II (disponibile presso R-Biopharm AG, art. n. ZRQS2-KD)
- Vorticatore

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 fra loro i reagenti di kit con numeri di lotto diversi.

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.

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

8. Raccolta e conservazione dei campioni

In questo test possono essere utilizzati campioni di plasma citrato e campioni di siero. Dopo il prelievo di sangue, il siero deve essere separato dal coagulo il più rapidamente possibile per evitare l'emolisi. Trasferire i campioni in una provetta pulita per la conservazione.

I campioni possono essere conservati a 2 - 8 °C per tre o quattro giorni, o a -20 °C per almeno un anno. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento.

9. Esecuzione del test

9.1. Informazioni generali

I campioni, il tampone di diluizione, i reagenti A e B e le strisce devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Una volta utilizzate, le strisce non devono essere riutilizzate. Il test non deve essere eseguito in presenza di luce solare diretta. I reagenti in eccesso non devono essere rimessi nei contenitori per evitare contaminazioni.

RIDA[®]QUICK SCAN II deve essere acceso prima di iniziare il test. Al primo utilizzo, il metodo del test deve essere sottoposto a scansione tramite lettore di codici a barre, e quindi conservato per ulteriori misurazioni su RIDA[®]QUICK SCAN II.

Prima di iniziare il test è necessario digitalizzare anche i parametri specifici del lotto, una volta per ogni lotto.

I codici QR per il metodo del test e per i parametri specifici del lotto si trovano sul certificato di analisi accluso al kit (cfr. anche il manuale di RIDA[®]QUICK SCAN II).

9.2 Preparazione dei campioni

9.2.1 Diluizione dei campioni

L'intervallo di misura di RIDA[®]QUICK ADM Monitoring è 0,5 - 25 µg/ml. Iniziare diluendo 20 µl di campione in 980 µl di tampone di diluizione [Sample diluent] (1:50). Miscelare accuratamente. Secondo la procedura descritta al punto 9.2.2, diluire ancora il campione 1:10 nel reagente A/reagente B per ottenere una diluizione finale di 1:500 (cfr. 9.2.2).

9.2.2 Incubazione del campione

In un flacone di reazione separato, miscelare 90 µl di [Reagent | A] (liquido blu, flacone con tappo blu) e 90 µl di [Reagent | B] (liquido giallo, flacone con tappo trasparente). Se occorre analizzare più strisce, è anche possibile usare la soluzione per più campioni contemporaneamente.

La miscela di [Reagent | A] (liquido blu) e [Reagent | B] (liquido giallo) produce una soluzione di colore verde.

Pipettare 20 µl di soluzione del campione diluito in 180 µl di miscela di reagenti A e B, per arrivare a una ulteriore diluizione del campione di 1:10 (cfr. 9.2.1). In questo modo si produce una diluizione finale di 1:500 del campione iniziale. Miscelare la soluzione accuratamente capovolgendola o utilizzando un vorticolatore per omogeneizzarla.

Successivamente incubare la miscela di reazione a temperatura ambiente esattamente per **5 minuti**.

9.3. Test dei campioni

Estrarre la cassetta del test [Cassette] dalla confezione e appoggiarla su una superficie piana. 100 µl di preparazione del campione dalla provetta di reazione della fase 9.2.2. vengono pipettati nel pozzetto del campione della cassetta.

Il risultato del test deve sempre essere letto dopo **15 minuti (+ max. 2 minuti)** tramite RIDA[®]QUICK SCAN II. Il tempo deve essere rigorosamente rispettato. Lo sviluppo di colore delle linee può cambiare durante l'intero tempo di sviluppo e dopo l'asciugatura. Il colore delle linee può variare dal rosso al blu-violetto /grigio man mano che la striscia si asciuga.

Le misurazioni eseguite prima o dopo il termine del tempo di incubazione di **15 minuti (+ max. 2 minuti)** possono portare a risultati errati.

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

Il test può essere valutato solo se la cassetta è intatta e non ci sono cambiamenti di colore o non sono presenti linee prima di applicare la sospensione del campione. La banda di controllo (contrassegnata con C sulla cassetta) deve essere visibile ogni volta che si esegue il test. Nel caso in cui questa banda non sia presente, prima di ripetere il test deve essere controllato quanto segue:

- Data di scadenza dei reagenti e della cassetta utilizzati
- Procedura di esecuzione del test corretta
- Contaminazione dei reagenti

Se la banda di controllo continua a non essere visibile dopo aver ripetuto il test con una diversa cassetta, contattare il produttore o il distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

La lettura viene eseguita su RIDA[®]QUICK SCAN II (cfr. anche il manuale di RIDA[®]QUICK SCAN II).

La banda di controllo (contrassegnata con C sulla cassetta) deve essere visibile ogni volta che si esegue il test. Se la banda non è visibile, seguire le istruzioni del capitolo 10.

A seconda della concentrazione di adalimumab nei campioni, la banda del segnale (contrassegnata con T sulla cassetta) potrebbe comparire in momenti diversi e con intensità diverse. Solo una volta trascorsi 15 minuti (+ max. 2 minuti) è possibile determinare il risultato finale del test utilizzando RIDA[®]QUICK SCAN II. Le bande potrebbero cambiare colore durante il tempo totale del test e dopo l'asciugatura. Le strisce possono cambiare colore durante il tempo totale di incubazione e possono anche cambiare dopo l'asciugatura. Il colore della striscia può variare dal rosso al blu-violetto/grigio.

12. Limiti del metodo

Il test RIDA[®]QUICK ADM Monitoring rileva la quota di ADM libero, funzionalmente attivo e non la quota di ADM legato agli anticorpi anti-adalimumab a causa dell'immunogenicità.

Le sole concentrazioni di adalimumab misurate con il test RIDA[®]QUICK ADM Monitoring non possono essere usate come unico criterio per decidere di modificare il regime posologico, e prima di procedere in tal senso ogni paziente deve essere sottoposto a un esame clinico completo e approfondito.

13. Prestazioni e caratteristiche

13.1. Precisione

13.1.1 Precisione intra-analisi

La precisione intra-analisi è stata testata utilizzando 5 riferimenti in 20 replicati ciascuno. Le concentrazioni di ADM sono state determinate con RIDA[®]QUICK SCAN II, da cui per ogni campione sono stati calcolati i valori medi (MV), le deviazioni standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV) risultanti dalle misurazioni. I risultati sono elencati nella tabella seguente.

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

13.1.2 Precisione inter-analisi

La precisione inter-analisi è stata testata utilizzando 5 riferimenti in 40 replicati ciascuno. I test sono stati condotti da tre operatori diversi in 10 giornate diverse, con due cicli di analisi al giorno (mattina e pomeriggio). Le concentrazioni di ADM sono state determinate con RIDA[®]QUICK SCAN II, da cui per ogni campione sono stati calcolati i valori medi (MV), le deviazioni standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV) risultanti dalle misurazioni. I risultati sono elencati nella tabella seguente.

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

13.2. Sensibilità analitica

Per determinare la sensibilità analitica, sono stati testati quattro campioni di controllo in tre replicati ciascuno nell'arco di tre giorni.

Il limite di quantificazione (LoQ) è 0,32 µg/ml ADM.

13.3. Specificità—interferenza

La presenza di bilirubina (50 mg/l), colesterolo (2,5 g/l), trigliceridi (5 g/l) ed emoglobina (200 mg/l) nelle concentrazioni nei campioni di siero umano non ha mostrato effetti sui risultati dei test.

13.4. Tasso di determinazione

13.4.1 Tasso di determinazione per Humira®

Tre campioni sono stati miscelati con ciascuna delle quattro diverse quantità di Humira® e le concentrazioni di ADM sono state determinate con RIDA®QUICK SCAN II.

Il tasso di determinazione medio è del 101%. I risultati sono elencati nella tabella seguente.

Campione	[µg/ml]	ADM aggiunto [µg/ml]	Valore misurato [µg/ml]	Valore target [µg/ml]	Recupero (%)
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
Valore 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
Valore 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
Valore medio					101

13.4.2 Correlazione con dosaggi di riferimento

Settantanove campioni di pazienti ADM-positivi nell'intervallo di concentrazione compreso tra 0,5 µg/ml e 25 µg/ml sono stati analizzati usando RIDASCREEN® ADM Monitoring e RIDA®QUICK ADM Monitoring ed è stata determinata la concentrazione. Il coefficiente di correlazione calcolato era $R^2 = 0,95$. I risultati sono mostrati nella figura seguente.

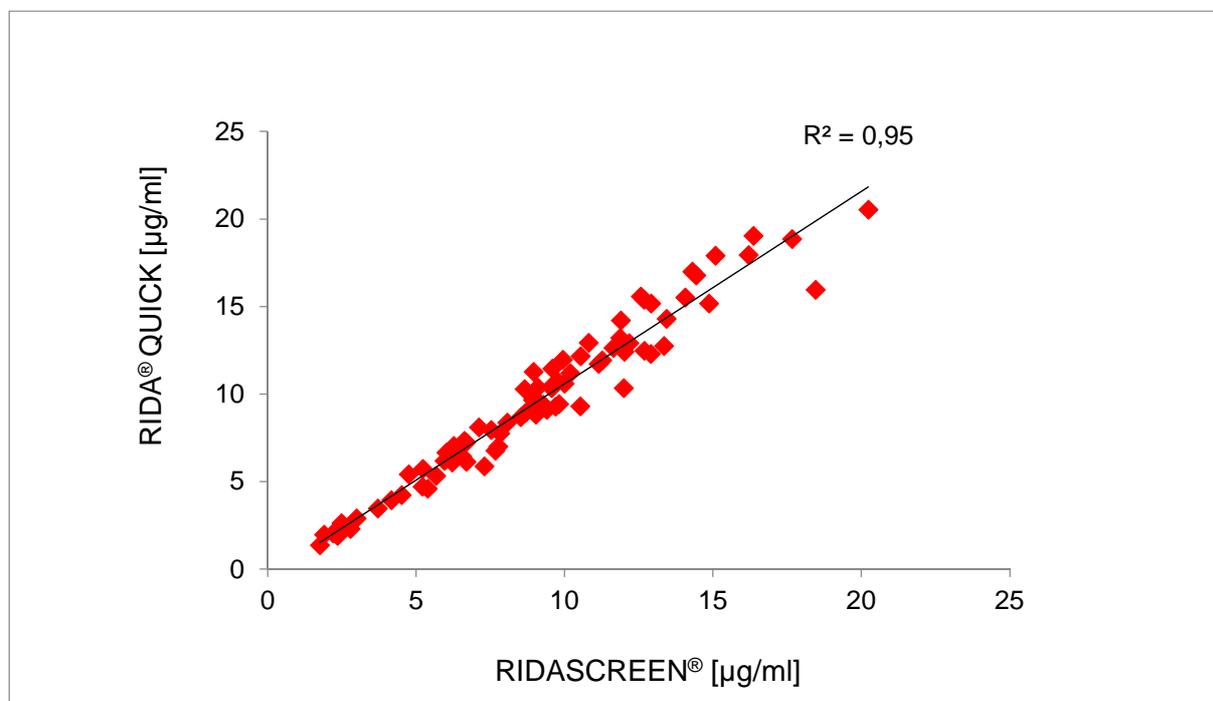


Figura 1. RIDA®QUICK ADM Monitoring mostra un'ottima correlazione ($R^2 = 0,95$) con RIDASCREEN® ADM Monitoring (n = 79).

14. Cronologia delle versioni

Numero della versione	Capitolo e designazione
2018-06-28	Versione di rilascio

15. Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	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

	Cassetta del test
	Tampone di diluizione
	Reagente A
	Reagente B

16. Bibliografia

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.