

RIDA® QUICK ADM Monitoring

REF GN3043



1. Uso previsto

Para utilização em diagnóstico *in-vitro*. Esse teste é um ensaio de fluxo lateral imunocromatográfico para a detecção quantitativa de adalimumab (ADM, Humira®) em soro e plasma humano.

2. Sumário e explicação do teste

Monitorização terapêutica de medicamentos

O Adalimumab (ADM) é um anticorpo monoclonal completamente humano que tem como alvo a citocina pró-inflamatória TNF α . O medicamento é usado para tratar doenças inflamatórias crônicas, como doença inflamatória intestinal, artrite reumatoide, espondiloartrite e psoríase em placas. O Adalimumab mostrou desencadear a remissão de longo prazo e melhora na qualidade de vida do paciente. ^[1] Em alguns pacientes, no entanto, o tratamento com ADM não funciona (não-respondedores primários); em outros, perde sua eficácia ao longo do tempo (não-respondedores secundários). ^[2]

Um medicamento só pode ser eficaz se houver concentrações adequadas no sangue. A concentração sérica de adalimumab imediatamente antes de sua próxima injeção, definida como concentração mínima, tem sido usada para Monitorização Terapêutica de Medicamentos (TDM). Publicações atuais sobre TDM mostraram que existe uma relação entre boa eficácia clínica e concentração mínima adequada em pacientes com doença inflamatória intestinal ^[3] e artrite reumatoide. A TDM pode, portanto, ser muito útil para otimizar o tratamento e superar a perda secundária de resposta. ^[4]

O RIDA® QUICK ADM Monitoring usa um anticorpo monoclonal altamente específico (MA-ADM40D8, isolado e caracterizado no KU Leuven). ^[5] Ele detecta apenas adalimumab; outras drogas anti-TNF, como infliximabe e golimumabe não interferem na medida.

Doenças intestinais inflamatórias crônicas

Fase de terapia de indução: A terapia de indução com adalimumab consiste em uma dose subcutânea de 160 mg na semana 0, seguida por 80 mg na semana 2 e 40 mg a cada duas semanas a partir da semana 4 em diante. Após boa resposta clínica na semana 12 a 14, o tratamento é continuado (manutenção).

Fase de tratamento de manutenção: Tem sido demonstrado que os pacientes que recebem tratamento de manutenção com concentrações mínimas consistentes têm maior probabilidade de permanecer em remissão do que os pacientes com concentrações mínimas não detectáveis. ^[6,7,8] O monitoramento regular das concentrações mínimas de ADM durante a fase de tratamento de manutenção pode ser útil para verificar o tratamento com ADM e ajustá-lo, se necessário.

Pacientes com concentrações baixas ou indetectáveis de medicamentos podem se beneficiar do aumento da dose ou do encurtamento do intervalo, enquanto o

intervalo em pacientes com concentrações muito altas de ADM pode ser prolongado com segurança. [9,10] Para o adalimumab, foi recomendada uma janela de concentração terapêutica mínima de 5 a 10 µg/ml.[9]

Imunogenicidade

Devido ao caráter imunogênico da droga, os anticorpos direcionados à droga geralmente se desenvolvem. Esse também é o motivo de uma perda secundária de resposta. [6] No caso de concentrações mínimas indetectáveis, a medição subsequente de anticorpos antidroga pode ser útil para determinar uma estratégia de tratamento adequada. Os anticorpos RIDASCREEN® Anti-ADM (G09044) são projetados para este propósito.

3. Princípio do teste

O ADM é detectado através da formação de um sanduíche de antígeno-anticorpo com MA-ADM40D8 e TNF α . Isso é visível pelo uso de nanopartículas de ouro coloidal marcadas. O sinal gerado é lido com o RIDA®QUICK SCAN II e a concentração de ADM é calculada usando a curva padrão que é armazenada no instrumento.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes no kit são suficientes para 25 determinações.

Cassette	1 peça.	25 bandejas de teste
Sample diluent	25 ml	Tampão de diluição de amostras, contém 0,09% NaN ₃ ; pronto para uso
Reagent A	2,5 ml	Reagente A; contém 0,09% de NaN ₃ ; pronto para uso
Reagent B	2,5 ml	Reagente B; contém 0,09% de NaN ₃ ; pronto para uso

As informações sobre as substâncias perigosas cumprem com os requisitos de marcação. Consulte as folhas de dados de segurança (SDSs) em www.r-biopharm.com.

4.1 Reagentes adicionais disponíveis

Os controles do RIDA®QUICK ADM Monitoring podem ser pedidos separadamente. O RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set (art. nº GP3043) contém 2 controles. Eles são usados da mesma forma que as amostras de pacientes e podem ser usados para verificar os reagentes do teste e a realização do teste. Conteúdo do RIDA®QUICK ADM Monitoring Control Set:

High control	1,2 ml	Específico de lote, controle positivo alto
--------------	--------	--

5. Instruções de armazenamento

O kit de teste pode ser armazenado em temperaturas entre 2 a 8 °C e pode ser utilizado até a data de validade impressa. Não permita que os reagentes permaneçam à temperatura ambiente por qualquer período de tempo. Depois do uso, armazene-os o mais rápido possível entre 2 a 8 °C. Após a data de validade, a garantia de qualidade não é mais válida. Se a embalagem exterior estiver danificada, a usabilidade da bandeja de teste não pode ser garantida.

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

- Tubo de reação
- Tubos de teste para suspensão de amostra (dois por amostra de paciente)
- Micropipetas com pontas descartáveis, 10 - 100 µl e 100 - 1000 µl
- Cronômetro
- Recipiente de descarte com uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5%
- RIDA®QUICK SCAN II (disponível pela R-Biopharm AG, art. no. ZRQS2-KD)
- Misturador vórtice

7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Apenas para diagnóstico *in vitro*.

Esse teste deve ser realizado apenas por pessoal de laboratório treinado. As diretrizes para trabalho em laboratórios médicos devem ser seguidas e as instruções de execução de testes estritamente observadas.

Não misture reagentes de kits com diferentes números de lote.

Não pipete amostras ou reagentes para a boca, e evite o contato com membranas mucosas ou pele lesionada. Ao manusear as amostras, utilize luvas descartáveis e, ao finalizar o teste, lave as mãos. Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras ou reagentes de teste estiverem sendo usados.

Os reagentes contêm NaN₃ como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou com a membrana mucosa.

8. Coleta e armazenamento de amostra

Neste ensaio, podem ser usadas amostras de plasma de citrato e amostras de soro. Depois da coleta de sangue, o soro deve ser separado do coágulo o mais rápido possível para evitar hemólise. Transfira os espécimes para um tubo de armazenamento limpo.

Os espécimes podem ser armazenados entre 2 a 8 °C por três a quatro dias ou a 20 °C negativos por pelo menos um ano. Congelamento e descongelamento repetidos devem ser evitados.

9. Realização do teste

9.1. Geral

As amostras, o tampão de diluição da amostra, os reagentes A e B e as tiras de teste devem estar em temperatura ambiente (20 a 25 °C) antes do uso. Uma vez utilizadas, as faixas de teste não devem ser reutilizadas. O teste não deve ser realizado sob luz solar direta. O excesso dos reagentes não deve ser colocado novamente nos recipientes, porque isso pode resultar em contaminação.

O RIDA®QUICK SCAN II deve ser ligado antes do início do teste. Na utilização inicial, o método de teste deve ser digitalizado através de um leitor de códigos de barras e depois armazenado para outras medições no RIDA®QUICK SCAN II.

Os parâmetros específicos do lote também devem ser digitalizados uma vez para cada lote antes do início do teste.

Os códigos QR para o método de teste e para os parâmetros específicos do lote podem ser encontrados no certificado de análise incluído no kit (consulte também o manual do RIDA®QUICK SCAN II).

9.2 Preparo das amostras

9.2.1 Diluindo as amostras

O intervalo de medição do RIDA®QUICK ADM Monitoring é de 0,5 a 25 µg/ml. Primeiro, dilua 20 µl do espécime em 980 µl de diluente de amostra [Sample diluent] (1:50). Misture bem a mistura. De acordo com a realização do teste em 9.2.2, depois dilua o espécime novamente 1:10 no Reagente A/Reagente B para obter uma diluição final de 1:500 (consulte 9.2.2).

9.2.2 Incubação do espécime

Em um frasco de reação separado, misture 90 µl de [Reagent | A] (fluido azul, frasco com tampa azul) com 90 µl [Reagent | B] (fluido amarelo, frasco com tampa transparente). Se várias tiras de teste forem processadas, a solução também pode ser usada para várias amostras ao mesmo tempo.

A mistura do [Reagent | A] (líquido azul) e [Reagent | B] (líquido amarelo) produz uma solução de cor verde.

Pipete 20 µl da solução de espécime diluído em 180 µl da mistura dos reagentes A e B, o que equivale a uma diluição adicional da amostra de 1:10 (consulte 9.2.1). Isso produz uma diluição final de 1:500 da amostra inicial. Misture as soluções completamente por inversão ou vórtex para homogeneizar a mistura da amostra. Em seguida, incube a mistura de reação à temperatura ambiente por exatamente **5 minutos**.

9.3. Teste da amostra

Remova a bandeja de teste **Cassette** da embalagem e coloque-a em uma superfície plana. 100 µl da preparação de amostra do tubo de reação da etapa 9.2.2 pipetada para no poço da amostra da bandeja de teste.

O resultado do teste deve ser lido sempre após **15 (+ máx. 2) minutos** usando RIDA®QUICK SCAN II. O tempo deve ser rigorosamente cumprido.

O desenvolvimento de cores das linhas pode mudar durante todo o tempo de desenvolvimento e após a secagem. A cor das linhas pode variar de vermelho a azul-violeta/cinza conforme a tira seca.

As medições de antes ou depois da conclusão dos **15 (+ máx. 2) minutos** do tempo de incubação pode levar a resultados errados.

10. Controle de qualidade—indicação de instabilidade ou expiração de reagentes

O teste só pode ser avaliado, se a bandeja de teste não estiver danificada e não houver alterações de cor ou linhas presentes antes de aplicar a suspensão da amostra. A banda de controle (identificada com C na bandeja de teste) deve aparecer sempre que o teste for executado. Caso esta faixa esteja ausente, o seguinte deve ser verificado antes de repetir o teste:

- prazo de validade dos reagentes e da bandeja de teste utilizada
- execução correta do teste
- contaminação de reagentes

Se a banda de controle ainda não estiver visível após repetir o teste com uma bandeja de teste diferente, entre em contato com o fabricante ou com o distribuidor local da R-Biopharm.

11. Avaliação e interpretação

A leitura é realizada no RIDA®QUICK SCAN II (consulte também o manual RIDA®QUICK SCAN II).

A banda de controle (marcada com C na bandeja de teste) deve aparecer sempre que o teste for executado. Caso esta faixa esteja ausente, siga as instruções de acordo com o capítulo 10.

Dependendo da concentração de adalimumab nas amostras, a banda de sinal (marcada com T na bandeja de teste) pode aparecer após diferentes durações e em diferentes intensidades. Apenas após o tempo total de execução de 15 (+ máx. 2) minutos, o resultado final do teste pode ser determinado usando o RIDA®QUICK SCAN II. As bandas podem mudar as cores durante o tempo total de teste e após secar. As faixas podem mudar durante o tempo de incubação total e também podem mudar após secar. A cor da faixa pode variar de vermelho para azul-violeta/cinza.

12. Limitações do método

O teste RIDA®QUICK ADM Monitoring detecta a proporção livre funcionalmente ativa de ADM e não a proporção de ADM que está ligada por anticorpos antiadalimumabe, devido à imunogenicidade.

Concentrações individuais adalimumab, medidas usando o RIDA®QUICK ADM Monitoring, não podem ser usadas como o único indicador para fazer alterações no regime de tratamento e cada paciente deve ser avaliado clinicamente por completo antes de serem feitas alterações nos regimes de tratamento.

13. Características de desempenho

13.1. Precisão

13.1.1 Precisão intraensaio

A precisão intraensaio foi testada usando 5 referências com 20 repetições cada. As concentrações de ADM foram determinadas usando o RIDA®QUICK SCAN II e os valores médios resultantes (MV), os desvios padrão (SD) e o coeficiente de variação (CV) das medições foram calculados para cada amostra. Os resultados estão listados na tabela a seguir.

Referências	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 Precisão interensaio

A precisão interensaio foi testada usando 5 referências com 40 repetições cada. Os testes foram realizados por três diferentes operadores em 10 dias de teste diferentes em duas execuções por dia (manhã e tarde). As concentrações de ADM foram determinadas usando o RIDA®QUICK SCAN II e os valores médios resultantes (MV), os desvios padrão (SD) e o coeficiente de variação (CV) das medições foram calculados para cada espécime. Os resultados estão listados na tabela a seguir.

Referências	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. Sensibilidade analítica

Para determinar a sensibilidade analítica, quatro amostras de controle em três repetições cada foram testadas ao longo de três dias.

O limite de quantificação (LoQ) é de 0,32 µg/ml ADM.

13.3. Especificidade—interferência

A presença de bilirrubina (50 mg/l), colesterol (2,5 g/l), triglicerídeos (5 g/l) e hemoglobina (200 mg/l) nas concentrações apresentadas em amostras de soro humano não teve efeito nos resultados do teste.

13.4. Taxa de detecção

13.4.1 Taxa de detecção de Humira®

Três amostras foram misturadas com cada uma das quatro diferentes quantidades de Humira® e as concentrações de ADM foram determinadas usando o RIDA®QUICK SCAN II.

A taxa de detecção média é de 101%. Os resultados estão listados na tabela a seguir.

Espécime	[µg/ml]	ADM adicionado [µg/ml]	Valor medido [µg/ml]	Valor alvo [µg/ml]	Recuperação (%)
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 médio				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 médio				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 médio				101	

13.4.2 Correlação com o teste de referência

Setenta e nove amostras de pacientes positivos para ADM variando em concentrações entre 0,5 µg/ml e 25 µg/ml foram medidas usando RIDASCREEN® ADM Monitoring e RIDA®QUICK ADM Monitoring, e a concentração foi determinada. O coeficiente de correlação calculado foi de $R^2 = 0,95$. Os resultados são mostrados na figura a seguir.

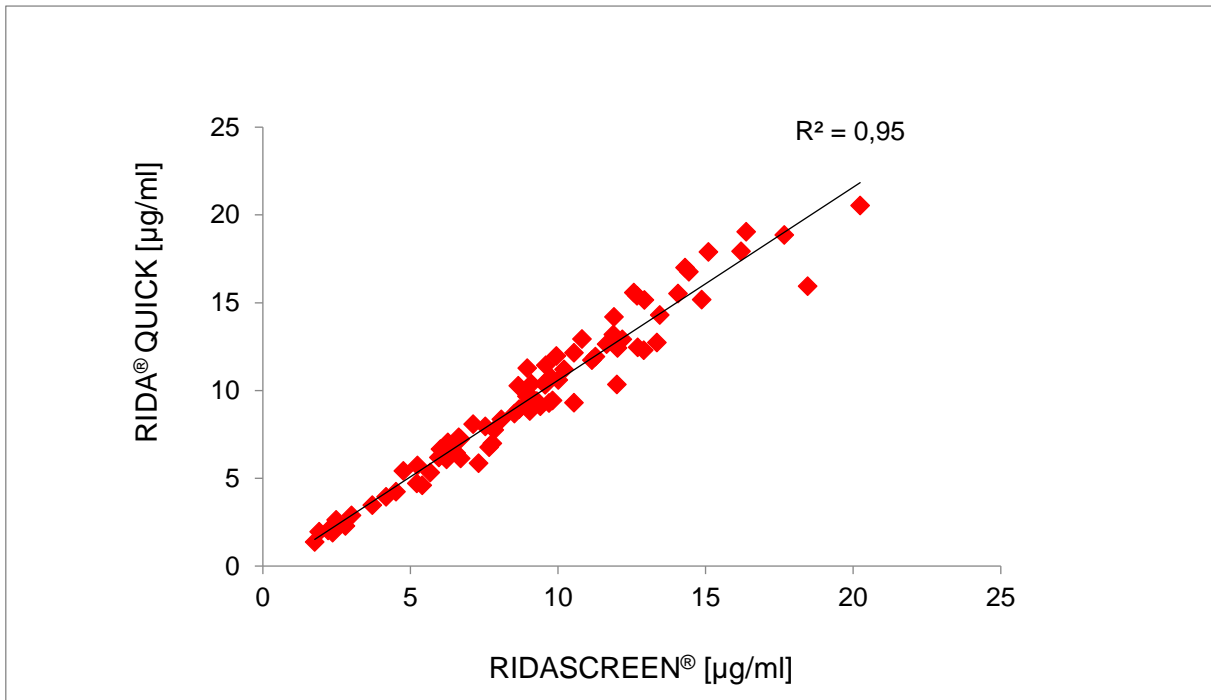











Figura 1. O RIDA®QUICK ADM Monitoring mostra uma boa correlação ($R^2 = 0,95$) com RIDASCREEN® ADM Monitoring (n = 79).

14. Histórico de versões

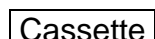
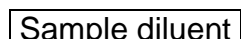
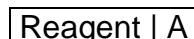
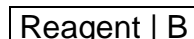
Número da versão	Capítulo e designação
28/06/2018	Versão da edição

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Respeitar as instruções de utilização
	Número de lote
	Válido até
	Temperatura de conservação
	Referência do produto
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos do teste

	Bandeja de teste
	Diluyente de amostra
	Reagente A
	Reagente B

16. Literatūra

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.