

## RIDASCREEN® GLM Monitoring

**REF** G09047



## 1. Application

Pour le diagnostic in vitro. RIDASCREEN® GLM Monitoring est un dosage d'immunoabsorption par enzyme liée (ELISA) destiné à la détermination quantitative de golimumab (GLM, Simponi®) dans le sérum et le plasma humains.

## 2. Résumé et explication du test

### Suivi thérapeutique pharmacologique

Le golimumab (GLM) est un anticorps monoclonal humain issu de souris transgéniques immunisées contre le TNF-alpha transformées pour exprimer les IgG humaines.<sup>1</sup> Le golimumab se lie aux formes bioactives soluble et transmembranaire du TNF-alpha, ce qui donne lieu à des complexes de haute affinité stables et empêche ainsi la liaison du TNF-alpha à ses récepteurs.<sup>2</sup> Le golimumab a été approuvé pour le traitement de divers troubles inflammatoires immunitaires dans lesquels le TNF-alpha joue un rôle important, notamment la polyarthrite rhumatoïde (PR), l'arthrite psoriasique, la spondylarthrite ankylosante et la colite ulcéreuse (CU). Un médicament ne peut avoir une action pharmacologique que lorsque des concentrations adéquates atteignent la circulation. La concentration sérique de golimumab juste avant la perfusion suivante, définie comme la concentration minimale, doit être utilisée pour le suivi thérapeutique pharmacologique (STP). Des données récentes sur le STP ont révélé une relation positive entre les concentrations sériques minimales de GLM et les résultats cliniques des patients atteints de PR<sup>3</sup> et de CU<sup>4</sup>. Le suivi thérapeutique pharmacologique pourrait donc être une option importante pour optimiser le traitement. RIDASCREEN® GLM Monitoring utilise un anticorps monoclonal très spécifique (MA-GOM171D8), qui a été isolé et caractérisé à la KU Leuven. Il détecte uniquement le golimumab ; les autres médicaments anti-TNF (comme l'infliximab, l'adalimumab) n'interfèrent pas avec la mesure.

### Colite ulcéreuse

La valeur diagnostique du STP chez les patients atteints de CU est décrite ci-dessous.

Dans la plupart des pays européens, les patients reçoivent le même traitement d'induction en pratique clinique quotidienne (200 mg à la semaine 0 et 100 mg à la semaine 2) suivi d'une dose modulée en fonction du poids corporel pendant la phase d'entretien, à savoir 50 mg toutes les quatre semaines pour les patients dont le poids corporel est inférieur à 80 kg et 100 mg de golimumab toutes les quatre semaines pour les patients dont le poids corporel est d'au moins 80 kg. Les résultats de l'étude PURSUIT et d'études d'observation en conditions réelles ont montré des taux de réponse clinique de 50 % environ après un traitement d'induction par golimumab.<sup>5-7</sup> Un rapport exposition-réponse a été observé dans la mesure où les patients les plus exposés au médicament avaient plus de chances d'obtenir de meilleurs résultats.<sup>4,8</sup> Ainsi, les mesures de la concentration minimale de GLM pendant ou peu de temps après l'induction ont permis d'identifier les patients sous-traités. Lors de l'étude

PURSUIT-M, les non-répondants de la semaine 6 ont enregistré des concentrations de médicament dans le sérum plus faibles que les répondants de la même semaine. Ces non-répondants précoces ont reçu 100 mg de golimumab en phase d'entretien, et leur exposition au médicament est passée à des concentrations comparables à celles des répondants de la semaine 14.<sup>9</sup>

Depuis juillet 2018, la posologie a donc changé et la dose des patients enregistrant une réponse inadéquate à l'induction peut être majorée à 100 mg à la semaine 6, puis augmenter ensuite toutes les quatre semaines. Un contrôle régulier des concentrations minimales de GLM pendant l'induction ou le traitement d'entretien peut donc être utile pour déterminer le calendrier de traitement par GLM.

### **Immunogénicité**

Il est actuellement difficile de déterminer si la perte de réponse au GLM s'explique par la formation d'anticorps anti-médicament dans la mesure où les études ont démontré un faible taux d'immunogénicité.<sup>10</sup> Toutefois, lorsque les concentrations minimales sont très faibles, la mesure des anticorps anti-médicament peut aider à déterminer la stratégie de traitement optimale.

### **3. Principe du test**

RIDASCREEN® GLM Monitoring utilise un anticorps monoclonal très spécifique dirigé contre le GLM (MA-GOM171D8, isolé et caractérisé à la KU Leuven) dans le cadre d'une méthode de type sandwich.

Les molécules TNF $\alpha$  sont appliquées à la surface des puits de la microplaque. Une dilution de l'échantillon de sérum ou de plasma des patients est pipetée dans un puits de la microplaque, puis incubée. Pendant cette étape d'incubation, le GLM se lie spécifiquement aux TNF $\alpha$  présents sur la plaque. Une seconde phase d'incubation avec MA-GOM171D8, conjugué à de la peroxydase de raifort, suit l'étape de lavage. En présence de GLM, un complexe en sandwich se forme entre les TNF $\alpha$  immobilisés, le GLM et les anticorps conjugués. Les anticorps marqués à l'enzyme non liés sont éliminés au cours de l'étape de lavage suivante. Après l'ajout du substrat, la solution incolore dans les micropuits virera au bleu en cas de résultat positif du test. Lors de l'ajout du réactif d'arrêt, la couleur passe du bleu au jaune. L'absorbance est proportionnelle à la concentration en GLM dans l'échantillon.

#### 4. Contenu du paquet

Un kit suffit pour 96 déterminations (Tableau 1).

**Tableau 1** : Contenu du paquet

Plate	96 dét.	Plaque de microtitrage, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support ; recouverte de TNF $\alpha$ humain
Standard 1-6	1 300 $\mu$ l	6 étalons ; concentrations des étalons 1 à 6 : 0 / 5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml de GLM ; contient du NaN <sub>3</sub> à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Low Control  +	1 300 $\mu$ l	Contrôle positif bas ; contient 30 ng/ml de GLM et du NaN <sub>3</sub> à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Control  +	1 300 $\mu$ l	Contrôle positif ; contient 70 ng/ml de GLM et du NaN <sub>3</sub> à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Diluent	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon ; contient du NaN <sub>3</sub> à 0,09 % ; prêt à l'emploi ; couleur orange
Conjugate	12 ml	Conjugué ; anticorps monoclonal conjugué à la peroxydase (MA-GOM171D8) ; prêt à l'emploi ; couleur rouge
Substrate	12 ml	Substrat ; peroxyde d'hydrogène / tétraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à l'emploi
Wash   20x	50 ml	Solution tampon (concentrée 20 fois) ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient des détergents et des agents antimicrobiens
Stop	6 ml	Réactif d'arrêt, H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M ; prêt à l'emploi
Covers   2 couvercles de plaque		

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](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette.

Les composants ouverts (réactifs, barrettes à micropuits) doivent être stockés entre 2 °C et 8 °C jusqu'à leur utilisation suivante et peuvent être conservés pendant 1 mois. La solution tampon diluée peut être utilisée pendant un mois lorsqu'elle est conservée entre 2 °C et 8 °C. Toute contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium contenant les barrettes à micropuits doit être ouvert sans arracher le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits inutilisées doivent être immédiatement replacées dans le sachet en aluminium avec le sachet déshydratant et conservées entre 2 °C et 8 °C jusqu'à ce que toutes les barrettes soient utilisées. Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

## 6. Réactifs requis, mais non fournis

### 6.1. Réactifs

-Eau distillée ou désionisée

### 6.2. Accessoires

-Micropipettes de précision et pipettes de laboratoire standard

-Éprouvette graduée (1000 ml)

-Tubes à essai propres en plastique ou en verre pour la dilution des échantillons

-Chronomètre

-Laveur de microplaques ou pipette multicanaux (300 µl)

-Lecteur de microplaque (450 nm, filtre de référence 620 nm)

-Papier filtre (serviettes de laboratoire)

-Conteneur de déchets avec une solution d'hypochlorite à 0,5 %

-Incubateur à 37 °C

## 7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au 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 les réactifs ou les barrettes de microtitrage enduites provenant de trousse portant des numéros de lot différents.

Certains ingrédients des étalons et des mélanges de contrôle positif sont issus de matériaux d'origine biologique. Aucun test connu ne peut garantir l'absence totale

d'agents infectieux dans ces matériaux. Par conséquent, les calibreurs et les mélanges de contrôle positif, ainsi que les échantillons de patients et tous les matériaux entrant en contact avec eux, doivent cependant être traités comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

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.

Le réactif d'arrêt contient de l'acide sulfurique 0,5 M, qui a un effet irritant. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. En cas de contact avec les yeux ou la peau, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.

Les réactifs contiennent du  $\text{NaN}_3$  comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses. Afin d'éviter la formation d'azotures métalliques explosifs dans la plomberie du laboratoire, faire couler de l'eau dans les canalisations après l'élimination de ces solutions.

Le substrat contient du peroxyde d'hydrogène et du N-méthyl-2-pyrrolidone (>3 %).

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## **8. Prélèvement et conservation des échantillons**

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

Conserver les échantillons entre 2 et 8 °C pendant au moins 3 à 4 jours ou à -20 °C pendant au moins six mois. Il convient d'éviter les cycles de congélation et décongélation répétés. Les échantillons doivent être dilués dans le tampon de dilution de l'échantillon (voir 9.3.1).

Les échantillons dilués peuvent être conservés pendant au moins 8 heures à température ambiante.

## **9. Réalisation du test**

### **9.1. Informations générales**

Tous les réactifs et la plaque de microtitrage Plate doivent être ramenés à température ambiante (20 °C à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après ouverture, les barrettes à micropuits inutilisées (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 °C et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et

les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons fuient. Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse. Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Pendant l'incubation, nous recommandons de couvrir la microplaque ou de placer un film dessus pour éviter toute perte par évaporation.

Pour obtenir des instructions sur l'exécution du test avec des instruments ELISA, contacter R-Biopharm AG ou le distributeur local.

## 9.2. Préparation de la solution tampon

Mélanger 1 volume de concentré de solution tampon **Wash | 20x** dans 19 volumes d'eau distillée (1/20). Verser 50 ml de concentré dans une éprouvette graduée de 1000 ml, puis compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 1000 ml. La solution reconstituée peut être conservée pendant au moins 1 mois entre 2 °C et 8 °C. Si la température est plus élevée, la solution de lavage concentrée peut prendre un aspect trouble sans que cela n'affecte ses performances. La solution redevient transparente après dilution.

## 9.3. Préparation des échantillons

Conserver les échantillons de sérum ou de plasma entre 2 °C et 8 °C pendant 3 ou 4 jours ou à -20 °C pendant au moins six mois (voir également chapitre 8). Il convient d'éviter les cycles de congélation et décongélation répétés. Les échantillons doivent être dilués dans le tampon de dilution de l'échantillon (voir 9.3.1).

Les échantillons dilués peuvent être conservés pendant au moins 8 heures à température ambiante.

### 9.3.1. Dilution de l'échantillon

#### a) Mesure des concentrations minimales en phase d'entretien du traitement

Pour mesurer la concentration minimale (concentration du médicament juste avant l'administration de la dose suivante) en phase d'entretien du traitement, les échantillons sont dilués au 1/100 :

Diluer 10 µl d'échantillon dans 990 µl de tampon de dilution **Diluent** (1/100). Utiliser 100 µl de cet échantillon final dilué pour le test.

La dilution de l'échantillon au 1/100 permet de déterminer des concentrations de GLM entre 0,5 et 12 µg/ml.

#### b) Mesure des concentrations minimales en phase de traitement d'induction

Pour mesurer les concentrations minimales pendant la phase d'induction ou pour mesurer des concentrations intermédiaires du médicament, ou des concentrations > 12,0 µg/ml, diluer les échantillons au 1/200 :

Diluer 10 µl d'échantillon dans 1990 µl de tampon de dilution **Diluent** (1/200).

Utiliser 100 µl de cet échantillon final dilué pour le test.

La dilution de l'échantillon au 1/200 permet de déterminer des concentrations de GLM entre 1,0 et 24 µg/ml.

#### **9.4. Première incubation**

Placer un nombre suffisant de puits dans le support, puis pipeter 100 µl d'étalons (1 à 6, **Standard | 1** à **Standard | 6**), le contrôle positif **Control | +**, le contrôle positif bas **Control | +**, et les échantillons dans les puits respectifs. Bien qu'il soit recommandé de pipeter les étalons, les contrôles et les échantillons en double, des résultats fiables seront également obtenus avec des dosages uniques. Puis incuber la plaque de microtitration couverte pendant une heure à 37°C.

#### **9.5. Premier lavage**

Il est important de réaliser le lavage soigneusement pour obtenir des résultats corrects et donc, de respecter les instructions à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits. Laver ensuite la plaque 5 fois systématiquement avec 300 µl de solution tampon diluée (voir 9.2). Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits. Lorsqu'un laveur de microplaque est utilisé, s'assurer qu'il est correctement réglé par rapport au type de microplaque utilisée. Garantir également l'aspiration de tout le liquide à chaque étape de lavage. Après le dernier lavage, retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

#### **9.6. Seconde incubation**

Ajouter 100 µl de conjugué **Conjugate** dans chaque puits. Incuber ensuite la plaque de microtitrage à 37 °C pendant 30 minutes.

#### **9.7. Deuxième lavage**

La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.

Laver ensuite la plaque 5 fois systématiquement avec 300 µl de solution tampon diluée. Retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant pour garantir l'élimination du liquide des micropuits.



## 9.8. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **Substrate** dans chaque puits. Incuber ensuite la plaque à 37 °C, dans le noir, pendant 10 minutes. Arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de réactif d'arrêt **Stop** dans chaque puits.

Après un mélange soigneux (en tapotant légèrement le côté de la plaque), mesurer l'absorbance à 450 nm (filtre de référence 620 nm) dans un lecteur de plaque.

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

À des fins de contrôle qualité, chacun des étalons 1 à 6 **Standard | 1** – **Standard | 6**, le contrôle positif **Control | +** et un contrôle positif bas **Low control | +** (il est recommandé de procéder en double) doivent être utilisés à chaque fois que le test est effectué pour s'assurer que le réactif est stable et que la procédure est correcte. Pour que chaque analyse soit valide, les spécifications suivantes doivent être respectées :

Valeur DO pour l'étalon 1 **Standard | 1** < 0,080

Valeur DO pour l'étalon 6 **Standard | 6** > 1,400

### a) Pour un facteur de dilution de 1/100 (phase de traitement d'entretien) :

Concentration pour le contrôle positif bas **Low Control | +** :

3 µg/ml, plage de 2 à 4 µg/ml

Concentration pour le contrôle positif **Control | +** :

7 µg/ml, plage de 5 à 10 µg/ml

### b) Pour un facteur de dilution de 1/200 (phase de traitement d'induction) :

Concentration pour le contrôle positif bas **Low Control | +** :

6 µg/ml, plage de 4 à 8 µg/ml

Concentration pour le contrôle positif **Control | +** :

14 µg/ml, plage de 10 à 20 µg/ml

Pour calculer la concentration de GLM dans les contrôles, il convient d'utiliser le même facteur de multiplication que pour les échantillons (voir **Chapitre 11.**

**Évaluation et interprétation**). La concentration est alors exprimée en µg/ml.

Exemple de calcul pour un facteur de dilution au 1/100 :

$$60 \text{ ng/ml} \times 100 \text{ (facteur de dilution)} = 6 \text{ µg/ml}$$

Si les valeurs diffèrent des valeurs requises ou si le substrat est trouble ou bleu avant d'être ajouté dans les puits, cela peut indiquer que les réactifs sont périmés. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation correcte du test

-Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites – une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

En cas de bruit de fond important (DO étalon 1 > 0,08), le lavage était insuffisant. Répéter le test avec un lavage plus vigoureux (augmenter le nombre de cycles, le temps de trempage).

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après le renouvellement du test, contacter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

## 11. Évaluation et interprétation

RIDA®SOFT Win.net est requis pour analyser les résultats. RIDA®SOFT Win.net (ou mise à jour) est disponible sur demande auprès de R-Biopharm AG ou de votre distributeur R-Biopharm local.

Tout autre logiciel d'évaluation disposant du modèle logistique à 4 paramètres peut également être utilisé à la place de RIDA®SOFT Win.net.

L'évaluation du test RIDASCREEN® GLM Monitoring s'effectue au moyen de la courbe standard, qui doit toujours être calculée parallèlement au déroulement de l'analyse.

Pour le contrôle de qualité final, R-Biopharm AG a déterminé les valeurs cibles et la plage de concentration autorisée pour le contrôle positif et le contrôle positif bas pour chaque lot de trousse dans des conditions de test idéales.

Le facteur de dilution doit être pris en compte dans le calcul de la concentration de GLM dans les échantillons du patient, en le multipliant par la concentration mesurée.

Exemple : le résultat de l'échantillon dilué au 1/100, obtenu par interpolation de la courbe d'étalonnage, est de 60 ng/ml. La concentration de GLM correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 6 µg/ml.

Exemple : le résultat de l'échantillon dilué au 1/200, obtenu par interpolation de la courbe d'étalonnage, est de 80 ng/ml. La concentration de GLM correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 16 µg/ml.

Si vous utilisez le logiciel RIDA®SOFT Win.net, le facteur de dilution est automatiquement appliqué lorsque vous utilisez la méthode appropriée :

Pour une dilution au 1/100, sélectionner : RIDA®SOFT Win.net méthode GLM100.met.

Pour une dilution au 1/200, sélectionner : RIDA®SOFT Win.net méthode GLM200.met.

La concentration est exprimée en µg/ml.

## 12. Limites de la méthode

Du fait de son immunogénicité, le test RIDASCREEN® GLM Monitoring détecte la partie libre et fonctionnellement active du GLM et non la partie du GLM qui est liée aux anticorps anti-golimumab.

Des concentrations individuelles de golimumab, mesurées à l'aide du test RIDASCREEN® GLM 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. Exemples de valeurs de densité optique (DO) types

Tableau 2 : Exemples de valeurs de densité optique types

Étalon	DO
1	0,007
2	0,119
3	0,233
4	0,508
5	1,387
6	2,483

## 13.2. Précision

### 13.2.1. Précision intra-essai

La précision intra-essai a été déterminée au cours d'une seule analyse utilisant 4 références étudiées en 20 répétitions. Les concentrations de GLM ont été déterminées à partir des valeurs de DO de ces mesures. La valeur moyenne, l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau 3 ci-dessous.

**Tableau 3 :** Précision intra-essai

Référence	1	2	3	4
Moyenne (µg/ml)	0,64	1,33	3,35	9,29
ET	0,03	0,06	0,12	0,43
<b>% CV</b>	<b>4,8</b>	<b>4,2</b>	<b>3,6</b>	<b>4,6</b>

### 13.2.2. Précision inter-essais

La précision inter-essais a été déterminée au cours de 5 analyses utilisant 4 références étudiées en 20 répétitions. Les concentrations de GLM ont été déterminées à partir des valeurs de DO de ces mesures. La valeur moyenne, l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats sont répertoriés dans le tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4 :** Précision inter-essais

Référence	1	2	3	4
Moyenne (µg/ml)	0,66	1,32	3,21	8,20
ET	0,04	0,05	0,13	0,73
<b>% CV</b>	<b>6,3</b>	<b>4,1</b>	<b>3,9</b>	<b>8,9</b>

## 13.3. Spécificité

### 13.3.1. Sérum/plasma humain normal

La spécificité a été déterminée en testant 100 échantillons de donneurs sains des Pays-Bas et de Belgique. Aucun échantillon n'a montré de concentration détectable de GLM, soit une spécificité de 100 %.

### **13.3.2. Interférence**

Un panel de 24 échantillons susceptibles d'interférer avec les substances du test a été analysé (panel constitué d'échantillons positifs aux HAMA, lipémiques, hémolysés, prélevés pendant le premier semestre de la grossesse ou contenant des taux élevés de cholestérol). Aucune interaction avec les facteurs évalués n'a été observée.

Un panel de 27 échantillons cliniques positifs au facteur rhumatoïde a été analysé et pour 3 échantillons, une concentration détectable de GLM inférieure ou égale à 0,2 µg/ml a été mesurée. Ainsi, le facteur rhumatoïde risque d'interférer avec le test RIDASCREEN® GLM Monitoring mais seulement dans une mesure minimale ne dépassant pas la limite de quantification inférieure du test.

### **13.3.3. Réactivité croisée**

Aucune réactivité croisée n'a été observée pour les produits biopharmaceutiques suivants utilisés pour traiter les maladies auto-immunes : infliximab, adalimumab, védolizumab et ustékinumab.

### **13.4. Sensibilité analytique**

La limite de détection a été définie comme 1 ng/ml. Avec un facteur de dilution de 1/100, elle correspond à 0,1 µg/ml.

### **13.5. Récupération**

15 échantillons négatifs au GLM ont été enrichis de différentes concentrations en GLM. D'après les valeurs de DO de cette mesure, la concentration en GLM a été déterminée à l'aide de la courbe standard et la récupération a été calculée. La récupération moyenne s'élève à 93 % (Tableau 5).

**Tableau 5** : Récupération de 15 échantillons négatifs au GLM enrichis de différentes concentrations en GLM

N°	GLM (µg/ml)	Récupération (%)
<b>Valeur de référence 1,71 µg/ml</b>		
1	1,59	93 %
2	1,50	88 %
3	1,40	82 %
4	1,51	88 %
5	1,67	97 %
6	1,74	102 %
7	1,62	95 %
8	1,47	86 %
9	1,73	101 %
10	1,66	97 %
11	1,43	84 %
12	1,51	88 %
13	1,59	93 %
14	1,55	90 %
15	1,56	91 %
<b>Valeur de référence 3,46 µg/ml</b>		
1	2,80	81 %
2	3,01	87 %
3	2,79	81 %
4	3,19	92 %
5	2,96	86 %
6	2,93	85 %
7	3,59	104 %
8	3,12	90 %
9	3,50	101 %
10	3,49	101 %
11	3,15	91 %
12	3,30	95 %
13	3,36	97 %
14	2,85	82 %
15	2,86	83 %

N°	GLM (µg/ml)	Récupération (%)
<b>Valeur de référence 10,01 µg/ml</b>		
1	10,75	107 %
2	9,97	100 %
3	10,30	103 %
4	9,75	97 %
5	9,84	98 %
6	10,63	106 %
7	9,29	93 %
8	9,06	90 %
9	8,85	88 %
10	8,86	88 %
11	9,98	100 %
12	9,10	91 %
13	9,33	93 %
14	9,61	96 %
15	10,21	102 %
<b>Moyenne</b>		<b>93 %</b>

### 13.6. Corrélation avec le test de référence et sensibilité diagnostique

Un panel d'échantillons cliniques comptant 18 échantillons a été analysé avec le test RIDASCREEN® GLM Monitoring puis les résultats ont été comparés à ceux des tests de référence (GLM ELISA développé à la KU Leuven). Un coefficient de corrélation de 0,91 a été déterminé.

Tous les échantillons présentant des taux de GLM mesurables avec le test de référence ont été détectés positifs (18 échantillons), d'où une sensibilité diagnostique de 100 %.










## 14. Historique des versions

**Tableau 6** : Historique des versions


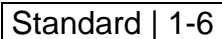
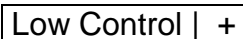
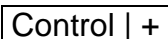
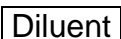
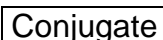
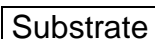
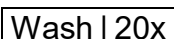

Numéro de version	Chapitre et description
2019-12-10	9.4. Première incubation

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Diagnostic <i>in vitro</i> .
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Utiliser avant le
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques des tests

	Plaque de microtitrage
	Étalons 1 à 6
	Contrôle positif bas
	Contrôle positif
	Tampon de dilution d'échantillon
	Conjugué
	Substrat
	Solution tampon (concentrée 20 fois)
	Réactif d'arrêt



## 16. Bibliographie

1. Hutas G. Golimumab, a fully human monoclonal antibody against TNFalpha. *Current opinion in molecular therapeutics* 2008;10:393-406.
2. Shealy DJ, Cai A, Staquet K, et al. Characterization of golimumab, a human monoclonal antibody specific for human tumor necrosis factor  $\alpha$ . *MAbs* 2010;2:428-439.
3. Kneepkens EL, Plasencia C, Krieckaert CL, et al. Golimumab trough levels, antidrug antibodies and clinical response in patients with rheumatoid arthritis treated in daily clinical practice. *Annals of the rheumatic diseases* 2014;73:2217-2219.
4. Detrez I, Dreesen E, Van Stappen T, et al. Variability in Golimumab Exposure: A 'Real-Life' Observational Study in Active Ulcerative Colitis. *Journal of Crohn's and Colitis* 2016;10:575-581.
5. Bosca-Watts MM, Cortes X, Iborra M, et al. Short-term effectiveness of golimumab for ulcerative colitis: Observational multicenter study. *World journal of gastroenterology* 2016;22:10432–10439.
6. Tursi A, Allegretta L, Della Valle N, et al. Effectiveness of golimumab in inducing remission and clinical response in outpatient ulcerative colitis. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology* 2016;40:e61-e63.
7. Taxonera C, Rodríguez C, Bertolotti F, et al. Clinical Outcomes of golimumab as first, second or third anti-TNF agent in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. *Inflammatory bowel diseases* 2017;23:1394-1402.
8. Adedokun O, Xu Z, Marano C, et al. Pharmacokinetics and Exposure-Response Relationship of Golimumab in Patients with Moderately-to-Severely Active Ulcerative Colitis: Results from Phase 2/3 PURSUIT Induction and Maintenance Studies. *Journal of Crohn's and Colitis* 2017;11:35-46.
9. Philip G, Marano C, Adedokun J, et al. P698 Early dose optimisation in non-responders to golimumab induction treatment for ulcerative colitis is supported by pharmacokinetic data. 2018;12:S464-S465.
10. Vermeire S, Gils A, Accossato P, et al. Immunogenicity of biologics in inflammatory bowel disease. *Therapeutic advances in gastroenterology* 2018;11:1756283X17750355.