



## RIDASCREEN<sup>®</sup> GLM Monitoring

**REF** G09047



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, 64297 Darmstadt,  
Germania

Telefono: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Campo di applicazione

Uso per la diagnostica *in vitro*. RIDASCREEN® GLM Monitoring è un dosaggio immunoassorbente legato a un enzima (ELISA) destinato alla determinazione quantitativa di golimumab (GLM, Simponi®) nel siero e nel plasma umano.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

### Monitoraggio terapeutico del farmaco

Golimumab (GLM) è un anticorpo monoclonale umano, derivato da topi transgenici immunizzati con TNF-alfa e progettati per esprimere IgG umane.<sup>1</sup> Golimumab si lega alle forme bioattive di TNF-alfa umano, sia solubili, sia transmembrana, dando origine a complessi stabili ad alta affinità, impedendo così il legame di TNF-alfa ai suoi recettori.<sup>2</sup> Golimumab è stato approvato per il trattamento di vari disturbi infiammatori cronici immuno-mediati in cui TNF-alfa svolge un ruolo importante, tra cui l'artrite reumatoide (RA), l'artrite psoriasica, la spondilite anchilosante e la colite ulcerosa (UC).

Un medicinale può esercitare il suo effetto farmacologico solo quando si raggiungono adeguate concentrazioni nella circolazione. La concentrazione sierica di golimumab appena prima dell'infusione successiva, definita come concentrazione minima, è stata utilizzata per il monitoraggio terapeutico del farmaco (TDM). Dati recenti sul TDM hanno mostrato una relazione positiva tra le concentrazioni sieriche minime di GLM e gli esiti clinici in pazienti con RA<sup>3</sup> e UC<sup>4</sup>. Il monitoraggio terapeutico del farmaco potrebbe essere quindi uno strumento importante per ottimizzare il trattamento. RIDASCREEN® GLM Monitoring utilizza un anticorpo monoclonale (MA-GOM171D8) altamente specifico, isolato e caratterizzato alla KU di Lovanio. Rileva solo golimumab; altri farmaci anti-TNF (come infliximab, adalimumab) non interferiscono con la misurazione.

### Colite ulcerosa

Il valore diagnostico di TDM nei pazienti affetti da CU è descritto di seguito. Nella maggior parte dei paesi europei, i pazienti ricevono lo stesso trattamento di induzione nella pratica clinica quotidiana (200 mg alla settimana 0 e 100 mg alla settimana 2) seguito da una stratificazione della dose basata sul peso corporeo durante il mantenimento, cioè 50 mg ogni quattro settimane per i pazienti con peso corporeo inferiore a 80 kg e 100 mg di golimumab ogni quattro settimane per i pazienti con peso corporeo di almeno 80 kg. I risultati di PURSUIT e di studi osservazionali reali hanno riportato tassi di risposta clinica di circa il 50% dopo la terapia di induzione di golimumab.<sup>5-7</sup> È stata osservata una relazione esposizione-risposta, poiché i pazienti con esposizione più elevata ai farmaci avevano maggiori probabilità di ottenere esiti migliori.<sup>4,8</sup> Le misurazioni della concentrazione minima di GLM durante o subito dopo l'induzione possono quindi essere utilizzate per identificare i pazienti non trattati. In PURSUIT-M, alla settimana 6, i non-responder avevano livelli sierici più bassi di farmaco rispetto ai responder alla settimana 6.

Questi primi non-responder hanno ricevuto una dose di mantenimento da 100 mg di golimumab e la loro esposizione al farmaco è risultata aumentata a livelli comparabili a quelli dei responder entro la settimana 14.<sup>9</sup> Dal luglio 2018, la posologia è stata quindi cambiata e nei pazienti con risposta inadeguata all'induzione, la dose può essere aumentata a 100 mg alla settimana 6 e successivamente ogni quattro settimane. Per valutare il programma di trattamento con GLM, può quindi essere utile controllare regolarmente le concentrazioni minime di GLM durante la terapia di induzione o di mantenimento.

### **Immunogenicità**

Attualmente, non è chiaro se la perdita di risposta a GLM sia dovuta alla formazione di anticorpi anti-farmaco, poiché gli studi hanno riportato un basso tasso di immunogenicità.<sup>10</sup> Tuttavia, nel caso di concentrazioni minime non rilevabili, la successiva misurazione degli anticorpi anti-farmaco può essere utile per determinare la strategia di trattamento ottimale.

### **3. Principio del test**

Nel dosaggio RIDASCREEN® GLM Monitoring, viene utilizzato un anticorpo monoclonale anti-GLM altamente specifico (MA-GOM171D8, isolato e caratterizzato alla KU di Lovanio) in un metodo a sandwich.

Molecole di TNF $\alpha$  sono applicate alla superficie del pozzetto nella piastra di microtitolazione. Una diluizione del campione di siero o di plasma dei pazienti viene pipettata nel pozzetto della piastra di microtitolazione e incubata. Durante tale fase di incubazione GLM si lega specificamente a TNF $\alpha$  sulla piastra. Dopo il lavaggio, segue una seconda fase di incubazione con MA-GOM171D8, coniugato con perossidasi del rafano. In presenza di GLM si forma un complesso a sandwich costituito da TNF $\alpha$  immobilizzato, GLM e anticorpi coniugati. Gli anticorpi non legati marcati da enzima vengono rimossi durante un'ulteriore fase di lavaggio. Dopo l'aggiunta di un substrato, la soluzione in precedenza incolore nei micropozzetti diventerà blu in caso di risultato del test positivo. All'aggiunta del reagente bloccante il colore vira dal blu al giallo. L'assorbanza è proporzionale alla concentrazione di GLM presente nel campione.

#### 4. Contenuto della confezione

Un kit è sufficiente per 96 test (Tabella 1).

**Tabella 1:** Contenuto della confezione

Plate	96 test	Piastra da microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (separabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con TNF $\alpha$ umano
Standard 1-6	1300 $\mu$ l	6 standard; concentrazioni degli standard da 1 a 6: 0 / 5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml GLM, contiene lo 0,09% di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso
Low Control  +	1300 $\mu$ l	Controllo positivo basso; contiene 30 ng/ml di GLM e lo 0,09% di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso
Control  +	1300 $\mu$ l	Controllo positivo; contiene 70 ng/ml di GLM e 0,09% di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso
Diluent	100 ml	Tampone di diluizione del campione; contiene lo 0,09% di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso; di colore arancione
Conjugate	12 ml	Coniugato; coniugato perossidasi; anticorpo monoclonale (MA-GOM171D8); pronto per l'uso; di colore rosso
Substrate	12 ml	Substrato; perossido di idrogeno / tetrametilbenzidina (TMB); pronto per l'uso
Wash   20x	50 ml	Tampone di lavaggio (conc. 20 X); soluzione di NaCl tamponata al fosfato; contiene agenti detergenti e antimicrobici
Stop	6 ml	Reagente bloccante; 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ; pronto per l'uso
2 coperchi per covers		

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

## 5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data stampata sull'etichetta. I componenti aperti (reagenti, strisce di micropozzetti) devono essere conservati a 2–8 °C fino all'uso successivo e possono essere conservati per 1 mese. Il tampone di lavaggio diluito può essere utilizzato per un mese se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.

La busta in alluminio contenente le strisce di microtitolazione deve essere aperta in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce di micropozzetti non necessarie devono essere immediatamente rimesse nella busta in alluminio con l'essiccante e conservate a 2–8 °C fino a quando tutte le strisce non siano state utilizzate. Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per evitare la decomposizione o la colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

## 6. Reagenti necessari ma non in dotazione

### 6.1. Reagenti

-Acqua distillata o deionizzata

### 6.2. Accessori

- Micropipette di precisione e pipette standard da laboratorio
- Cilindro graduato (1000 ml)
- Provette pulite di vetro o di plastica per la diluizione dei campioni
- Cronometro
- Dispositivo di lavaggio per micropiastre o pipetta multicanale (300 µl)
- Lettore di micropiastre (450 nm, filtro di riferimento 620 nm)
- Carta filtrante (carta da laboratorio)
- Contenitore per rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5%
- Incubatore da 37 °C

## 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 reagenti o strisce di microtitolazione rivestite provenienti da kit con numeri di lotto diversi.

Alcuni ingredienti degli standard e delle miscele del controllo positivo sono derivati da materiali di origine biologica. Nessun test noto può garantire che tali materiali siano

completamente esenti da agenti infettivi. Pertanto, i calibratori e le miscele del controllo positivo, così come i campioni dei pazienti e tutti i materiali che entrano in contatto con essi, devono essere trattati come potenzialmente infettivi.

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 dopo aver terminato il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni o con i reagenti del test.

Il reagente bloccante contiene 0,5 M di acido solforico che è irritante. Evitare il contatto con la cute e con gli indumenti. In caso di contatto con gli occhi o la pelle, lavare abbondantemente con acqua e consultare un medico.

I reagenti contengono  $\text{NaN}_3$  come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose. Per evitare la formazione di azoturi metallici potenzialmente esplosivi nelle tubature del laboratorio, lavare a fondo gli scarichi dopo lo smaltimento di queste soluzioni.

Il substrato contiene perossido di idrogeno e N-metil-2-pirrolidone (>3%).

Per ulteriori dettagli consultare le schede dati di sicurezza (SDS) su [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 8. Raccolta e conservazione dei campioni

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

I campioni possono essere conservati a 2–8 °C per almeno 3–4 giorni, o a -20 °C per almeno sei mesi. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento. Diluire i campioni nell'apposito tampone di diluizione (vedere 9.3.1.).

I campioni diluiti possono essere conservati per almeno 8 ore a temperatura ambiente.

## 9. Esecuzione del test

### 9.1. Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra da microtitolazione Plate devono essere portati a temperatura ambiente (20–25 °C) prima dell'uso. Le strisce da microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo aver raggiunto la temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'apertura, le strisce di micropozzetti non utilizzate (in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce di micropozzetti non devono essere riutilizzate. I reagenti e le strisce di micropozzetti non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o se i flaconcini non sono ermetici. Impedire il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione crociata. Il test non

deve essere eseguito in presenza di luce solare diretta. Durante l'incubazione, si raccomanda di coprire la piastra di microtitolazione o di sigillarla con una pellicola per evitare la perdita per evaporazione.

Per istruzioni sulle modalità di esecuzione del test con sistemi ELISA contattare R-Biopharm AG o il distributore locale.

## 9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato per tampone di lavaggio **Wash | 20x** con 19 parti di acqua distillata (1:20). Versare 50 ml di concentrato in un cilindro graduato da 1000 ml e aggiungere acqua distillata fino a ottenere 1000 ml. La soluzione ricostituita può essere conservata per almeno un mese a 2–8 °C. A temperature più elevate, la soluzione di lavaggio concentrata può apparire torbida senza che ciò ne alteri le caratteristiche. Una volta diluita, la soluzione sarà trasparente.

## 9.3. Preparazione dei campioni

I campioni di siero o plasma possono essere conservati a 2–8 °C per 3–4 giorni, o a -20 °C per almeno sei mesi (vedere anche il capitolo 8). Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento. Diluire i campioni nell'apposito tampone di diluizione (vedere 9.3.1.).

I campioni diluiti possono essere conservati per almeno 8 ore a temperatura ambiente.

### 9.3.1. Diluizione del campione

#### a) Misurazione delle concentrazioni minime durante la fase di mantenimento della terapia

Per misurare la concentrazione minima (concentrazione del farmaco appena prima della somministrazione successiva) durante la fase di mantenimento della terapia, i campioni sono diluiti 1:100:

10 µl di campione sono diluiti in 990 µl di tampone di diluizione del campione **Diluent** (1:100).

100 µl di questo campione diluito finale sono poi utilizzati nel test.

Se il campione viene diluito 1:100, è possibile determinare concentrazioni di GLM tra 0,5 e 12 µg/ml.

#### b) Misurazione delle concentrazioni minime durante la fase di induzione della terapia

Per misurare le concentrazioni minime durante la fase di induzione della terapia oppure per misurare concentrazioni intermedie o >12,0 µg/ml, i campioni vengono diluiti 1:200:

10 µl di campione sono diluiti in 1990 µl di tampone di diluizione del campione **Diluent** (1:200).

100 µl di questo campione diluito finale sono poi utilizzati nel test.

Se il campione viene diluito 1:200, è possibile determinare concentrazioni di GLM tra 1,0 e 24 µg/ml.

#### **9.4. Prima incubazione**

Posizionare un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, quindi pipettare 100 µl di standard (da 1 a 6, da **Standard | 1** a **Standard | 6**), il controllo positivo **Control | +**, il controllo positivo basso **Low control | +** e i campioni nei rispettivi pozzetti. Sebbene sia consigliabile pipettare gli standard, i controlli e i campioni in duplicato, i risultati sono affidabili anche con analisi singole. Quindi incubare la piastra da microtitolazione coperta per un'ora a 37 °C.

#### **9.5. Primo lavaggio**

Un accurato lavaggio è importante per ottenere risultati corretti e deve pertanto essere effettuato attenendosi rigorosamente alle istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito (vedere 9.2). Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti. Quando si utilizza un dispositivo di lavaggio per micropiastre, accertarsi che la macchina sia regolata correttamente sul tipo di piastra da microtitolazione impiegato. Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase del lavaggio. Dopo averla lavata l'ultima volta, picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

#### **9.6. Seconda incubazione**

Aggiungere 100 µl di coniugato **Conjugate** in ogni pozzetto. Quindi incubare la piastra da microtitolazione coperta a 37 °C per 30 minuti.

#### **9.7. Secondo lavaggio**

Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito. Picchiettare con vigore la piastra rovesciata contro la carta assorbente per garantire la rimozione completa del liquido dai micropozzetti.

## 9.8. Terza incubazione

Aggiungere 100 µl di substrato **Substrate** a ogni pozzetto. Incubare poi la piastra a 37 °C al buio per 10 minuti. Quindi arrestare la reazione aggiungendo 50 µl di reagente bloccante **Stop** a ogni pozzetto.

Dopo avere miscelato con attenzione (picchiettando leggermente il lato della piastra) misurare l'assorbanza a 450 nm (filtro di riferimento 620 nm) in un lettore per piastre.

## 10. Controllo qualità – indicazioni di instabilità o scadenza dei reagenti

Per il controllo di qualità, ogni standard da 1 a 6 **Standard | 1** – **Standard | 6**, controllo positivo **Control | +** e controllo positivo basso **Low control +** (raccomandati ognuno in duplicato) deve essere utilizzato a ogni esecuzione del test per garantire la stabilità del reagente e procedure corrette. Affinché un ciclo sia valido è necessario che durante la sua esecuzione vengano soddisfatte le seguenti specifiche:

Valore OD per Standard 1 **Standard | 1** <0,080

Valore OD per Standard 6 **Standard | 6** >1,400

### a) Se viene usato il fattore di diluizione 1:100 (fase di terapia di mantenimento):

Concentrazione per il controllo positivo basso **Low Control | +**:  
3 µg/ml, range 2–4 µg/ml

Concentrazione per il controllo positivo **Control | +**:  
7 µg/ml, intervallo 5–10 µg/ml

### b) Se viene usato il fattore di diluizione 1:200 (fase della terapia di induzione):

Concentrazione per il controllo positivo basso **Low Control | +**:  
6 µg/ml, range 4–8 µg/ml

Concentrazione per il controllo positivo **Control | +**:  
14 µg/ml, range 10–20 µg/ml

Per calcolare la concentrazione di GLM nei controlli deve essere utilizzato lo stesso fattore di moltiplicazione dei campioni (vedere **Capitolo 11. Valutazione e interpretazione**). La concentrazione è quindi espressa in µg/ml.

Esempio di calcolo per fattore di diluizione 1:100:

$$60 \text{ ng/ml} \times 100 \text{ (fattore di diluizione)} = 6 \text{ µg/ml}$$

Se i valori differiscono da quelli richiesti, se il substrato è torbido o è diventato blu prima dell'aggiunta ai pozzetti, questo può indicare che i reagenti sono scaduti. Se i valori fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (ad es. calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Controllo visivo che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite: non utilizzare una soluzione di substrato che sia diventata blu.

Un segnale di fondo elevato (O.D. standard 1 >0,08) indica lavaggio insufficiente. Ripetere il test con un lavaggio più energico (maggior numero di cicli, tempo di immersione).

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, contattare il produttore o il proprio distributore R-Biopharm locale.

## 11. Valutazione e interpretazione

Per l'analisi dei risultati è necessario RIDA®SOFT Win.net. Il software RIDA®SOFT Win.net o il suo aggiornamento può essere richiesto a R-Biopharm AG o al proprio distributore R-Biopharm locale.

Come alternativa a RIDA®SOFT Win.net può essere utilizzato anche qualsiasi altro software di valutazione che fornisce il modello logaritmico logistico a 4 parametri.

La valutazione di RIDASCREEN® GLM Monitoring è ottenuta mediante curva standard, che deve sempre essere elaborata durante l'esecuzione del test.

Nel controllo di qualità finale, R-Biopharm AG ha stabilito i valori target e l'intervallo di concentrazione consentito per il controllo positivo e il controllo positivo Low per ciascun lotto del kit in condizioni di test ottimali.

Nel calcolare la concentrazione di GLM nei campioni dei pazienti moltiplicando la concentrazione misurata per il fattore di diluizione è necessario tenere conto del fattore di diluizione.

Esempio: il risultato del campione diluito 1:100, ottenuto per interpolazione dalla curva di calibrazione, è 60 ng/ml. La concentrazione di GLM corrispondente nel campione non diluito è dunque 6 µg/ml.

Esempio: il risultato del campione diluito 1:200, ottenuto per interpolazione dalla curva di calibrazione, è 80 ng/ml. La concentrazione di GLM corrispondente nel campione non diluito è dunque 16 µg/ml.

Se viene utilizzato il software RIDA®SOFT Win.net il fattore di diluizione è applicato automaticamente quando viene usato il metodo appropriato:

Per la diluizione 1:100 selezionare: RIDA®SOFT Win.net metodo GLM100.met.

Per la diluizione 1:200 selezionare: RIDA®SOFT Win.net metodo GLM200.met.

La concentrazione viene indicata in µg/ml.

## 12. Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® GLM Monitoring rileva la quota di GLM libero, funzionalmente attivo e non la quota di GLM legato da anticorpi anti-golimumab a causa dell'immunogenicità.

Le concentrazioni di golimumab misurate con il test RIDASCREEN® GLM 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. Esempio di valori tipici di densità ottica (O.D.)

Tabella 2: Esempio di valori tipici di densità ottica

Standard	O.D.
1	0,007
2	0,119
3	0,233
4	0,508
5	1,387
6	2,483

## 13.2. Precisione

### 13.2.1. Precisione intra-analisi

La precisione intra-analisi è stata determinata in un unico ciclo utilizzando 4 riferimenti in 20 replicati ciascuno. Le concentrazioni di GLM sono state determinate dai valori O.D. di queste misurazioni. Per ogni campione sono stati calcolati il valore medio, la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV). I risultati sono elencati nella Tabella 3.

**Tabella 3:** Precisione intra-analisi

Riferimento	1	2	3	4
Media ( $\mu\text{g/ml}$ )	0,64	1,33	3,35	9,29
SD	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. Precisione inter-analisi

La precisione inter-analisi è stata determinata in 5 cicli utilizzando 4 riferimenti in 20 replicati ciascuno. Le concentrazioni di GLM sono state determinate dai valori O.D. di queste misurazioni. Per ogni campione sono stati calcolati il valore medio, la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV). I risultati sono elencati nella Tabella 4 riportata di seguito.

**Tabella 4:** Precisione inter-analisi

Riferimento	1	2	3	4
Media ( $\mu\text{g/ml}$ )	0,66	1,32	3,21	8,20
SD	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. Specificità

### 13.3.1. Siero/plasma umano normale

La specificità è stata determinata testando 100 campioni di donatori sani di origine olandese e belga. Nessuno dei campioni ha mostrato una concentrazione rilevabile di GLM, con conseguente specificità del 100%.

### **13.3.2. Interferenza**

È stato analizzato un panel di 24 campioni potenzialmente interferenti composto da campioni HAMA positivi, lipemici, ipercolesterolemici, emolizzati e di donne nel primo semestre di gravidanza. Non è stata osservata alcuna interazione con i fattori esaminati.

È stato testato un panel di 27 campioni clinici positivi per il fattore reumatoide e in 3 campioni è stato misurato un livello rilevabile di GLM, non superiore a 0,2 µg/ml. Quindi, il fattore reumatoide potrebbe interferire con RIDASCREEN® GLM Monitoring ma solo in piccola parte non superando il limite inferiore di quantificazione del test.

### **13.3.3. Reattività incrociata**

Non è stata osservata alcuna reattività crociata per i seguenti biofarmaci applicati per il trattamento di malattie autoimmuni: infliximab, adalimumab, vedolizumab e ustekinumab.

### **13.4. Sensibilità analitica**

Il limite di rilevazione è stato determinato come pari a 1 ng/ml. Tenendo conto di un fattore di diluizione 1:100, questo corrisponde a 0,1 µg/ml.

### **13.5. Recupero**

15 campioni negativi per GLM sono stati addizionati con concentrazioni variabili di GLM. In base ai valori OD di questa misurazione, la concentrazione di GLM è stata determinata utilizzando la curva standard e il recupero calcolato. Il recupero medio è del 93% (Tabella 5).

**Tabella 5:** Recupero di 15 campioni GLM-negativi addizionati con concentrazioni di GLM variabili.

<b>Nr.</b>	<b>GLM (µg/ml)</b>	<b>Recupero (%)</b>
<b>Valore di riferimento 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>Valore di riferimento 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%

Nr.	GLM ( $\mu\text{g/ml}$ )	Recupero (%)
<b>Valore di riferimento 10,01 <math>\mu\text{g/ml}</math></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%
Nr.	GLM ( $\mu\text{g/ml}$ )	Recupero (%)
13	9,33	93%
14	9,61	96%
15	10,21	102%
<b>Media</b>		<b>93%</b>

### 13.6. Correlazione con dosaggi di riferimento e sensibilità diagnostica

Un panel di campioni clinici di 18 campioni è stato analizzato utilizzando RIDASCREEN® GLM Monitoring e i risultati sono stati confrontati con quelli del test di riferimento (GLM ELISA sviluppato dalla KU di Lovanio). È stato determinato un coefficiente di correlazione di 0,91.

Tutti i campioni con livelli di GLM misurabili secondo il test di riferimento sono risultati positivi (18 campioni) con una sensibilità diagnostica del 100%.

## 14. Cronologia delle versioni

**Tabella 6:** Cronologia delle versioni

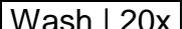
Numero della versione	Capitolo e descrizione
2019-12-10	9.4. Prima incubazione

## 15. Descrizione dei simboli

### Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	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

	Piastra da microtitolazione
	Standard 1-6
	Controllo positivo Low
	Controllo positivo
	Tampone di diluizione del campione
	Coniugato
	Substrato
	Tampone di lavaggio (conc. 20 X)
	Reagente bloccante

## 16. Bibliografia

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.