

## RIDASCREEN® UST Monitoring

**REF** G09049



## 1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. RIDASCREEN® UST est un test d'immunoabsorption par enzyme liée destiné à la détermination quantitative de l'ustékinumab (UST, Stelara®) dans le sérum et le plasma humains.

## 2. Résumé et explication du test

### Suivi thérapeutique pharmacologique

L'ustékinumab (UST) est un anticorps monoclonal entièrement humain qui se lie à la sous-unité p40 commune à IL-12 et IL-23, ce qui permet d'éviter toute interaction avec les récepteurs de cytokines sur les cellules T, les cellules tueuses naturelles et les cellules présentatrices d'antigène<sup>1</sup>. L'UST a été approuvé pour le traitement de la maladie de Crohn modérée à sévère, le psoriasis en plaques et l'arthrite psoriasique<sup>2-4</sup>.

Un médicament ne peut avoir une action pharmacologique que lorsque des concentrations adéquates atteignent la circulation. La concentration sérique de matériaux biologiques juste avant l'administration suivante, définie comme la concentration minimale, doit être utilisée pour le suivi thérapeutique pharmacologique (STP). Des données récentes indiquent une relation positive entre la concentration en sérum d'UST, mesurée à un point temporel minimum ou intermédiaire et les résultats cliniques chez les patients atteints de la maladie de Crohn et de psoriasis en plaques, respectivement. Le STP peut donc s'avérer très utile pour optimiser le traitement. RIDASCREEN® UST Monitoring utilise des anticorps monoclonaux très spécifiques développés à l'Université de Louvain en Belgique (KU Leuven). Les médicaments anti-TNF (comme l'infliximab, l'adalimumab et le golimumab) ou les médicaments anti-intégrine  $\alpha_4\beta_7$  (comme le védolizumab) n'interfèrent pas avec la mesure. L'utilisation de mesures de concentrations d'UST chez des patients atteints de psoriasis en plaques et de la maladie de Crohn est décrite en guise d'exemple de STP.

### Maladie de Crohn

L'UST est administré par voie intraveineuse (IV) à la semaine 0, puis toutes les 8 semaines par voie sous-cutanée. Les essais d'induction UNITI-1 et UNITI-2 ont démontré une réponse clinique à la semaine 6, chez 33,7 % et 55,5 % des patients respectivement. Lors du traitement d'entretien avec administration d'ustékinumab par voie sous-cutanée, 53,1 % des patients étaient en phase de rémission à la semaine 44 dans l'essai IM-UNITI<sup>2</sup>.

Différentes études ont démontré la relation entre des concentrations minimales d'ustékinumab et des réponses clinique, biologique et endoscopique, indiquant l'utilité du suivi thérapeutique pharmacologique pour guider la prise de décision clinique<sup>5-7</sup>.

## **Psoriasis en plaques**

L'UST est administré en fonction du poids par voie sous-cutanée aux semaines 0 et 4, puis toutes les 12 semaines. Les essais Phoenix 1 et 2 indiquent qu'un traitement d'ustékinumab permet d'obtenir des améliorations significatives et rapides chez les patients atteints de psoriasis modéré à sévère<sup>3,4</sup>.

Une étude récente a démontré une relation entre la concentration et la réponse à la semaine 4, après une injection pour les patients atteints de psoriasis et traités par ustékinumab. L'étude indique que le suivi des concentrations en ustékinumab 4 semaines après l'injection peut permettre d'identifier rapidement les patients sous-exposés qui pourraient bénéficier d'une optimisation du traitement<sup>8</sup>.

## **Immunogénicité**

Il a été démontré que l'immunogénicité de l'ustékinumab est très faible<sup>8,9</sup>.

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

RIDASCREEN® UST Monitoring utilise deux anticorps monoclonaux très spécifiques (MA-UST56C1H12 et MA-UST56A2D11), isolés et caractérisés à la KU Leuven. Les anticorps monoclonaux dirigés contre l'ustékinumab (MA-UST56C1H12) sont appliqués à la surface du puits de la microplaque. Pendant cette étape d'incubation, l'ustékinumab se lie spécifiquement aux anticorps présents sur la plaque. Une seconde phase d'incubation avec MA-UST56A2D11, conjugué à de la peroxydase de raifort suit l'étape de lavage. En présence d'UST, un complexe en sandwich se forme entre les MA-UST56C1H12 immobilisés, les UST 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 UST dans l'échantillon.

#### 4. Contenu du paquet

Une trousse suffit pour 96 déterminations (Tableau 1).

**Tableau 1** : Contenu du paquet

Plate	96 dét.	Plaque de microtitration, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support ; revêtue de l'anticorps monoclonal MA-UST56C1H12
Standard   1-6	1 300 µl	6 étalons ; concentrations des étalons 1 à 6 : 0 / 2,5 / 10 / 20 / 60 / 120 ng/ml ; contient du NaN <sub>3</sub> à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Low Control   +	1 300 µl	Contrôle positif bas ; contient 8 ng/ml d'UST et du NaN <sub>3</sub> à 0,09 % ; prêt à l'emploi
Control   +	1 300 µl	Contrôle positif ; contient 70 ng/ml d'UST 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 de la peroxydase MA-UST56A2D11 ; prêt à l'emploi ; couleur rouge
Substrate	12 ml	Substrat ; peroxyde d'hydrogène / tétraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à l'emploi
Wash   20x	50 ml	Tampon de lavage (concentré 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
2 couvercles covers 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

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 et 8 °C jusqu'à leur utilisation suivante et peuvent être conservés pendant 2 mois. Le tampon de lavage dilué peut être utilisé pendant un mois lorsqu'il est conservé entre 2

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 qui ne sont pas nécessaires doivent être immédiatement remises dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 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**

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux et les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Ne pas mélanger les réactifs ou les barrettes de microtitrage enduites provenant de trousseaux 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 (>0,3 %). 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. Les échantillons peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant au moins 3 à 4 jours ou à -20 °C pendant au moins 12 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 microtitration Plate doivent être ramenés à température ambiante (20 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 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 du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **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 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

Les échantillons de sérum ou de plasma peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 3 ou 4 jours ou à -20 °C pendant au moins 12 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 de l'échantillon **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 d'UST entre 0,04 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 de l'échantillon **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 d'UST entre 0,08 et 24 µg/ml.

## 9.4 Première incubation

Après avoir placé le nombre de puits requis dans le support, ajouter 100 µl des étalons 1 à 6 (**Standard | 1** à **Standard | 6**), le contrôle positif **Control | +**, ainsi

que le contrôle positif bas **Low control | +** et les échantillons dans les puits appropriés. Bien qu'il puisse être conseillé d'analyser les calibreurs, les contrôles et les échantillons en double, des résultats fiables sont également obtenus en effectuant une seule analyse. Incuber ensuite la plaque de microtitrage à 37 °C pendant 1 heure.

### 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 tampon de lavage dilué (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 Deuxième incubation

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

### 9.7 Second 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 tampon de lavage dilué. 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** à **Standard | 6**, le contrôle positif **Control | +** et le 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 de DO pour l'étalon 1 **Standard | 1** < 0,080

Valeur de 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 | +**:

0,8 µg/ml, plage de 0,55 à 1,10 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 | +**:

1,6 µg/ml, plage de 1,10 à 2,20 µg/ml

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

14 µg/ml, plage de 10 à 20 µg/ml

Pour calculer la concentration d'UST 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

RIDASOFT® Win.NET est requis pour analyser les résultats.

RIDASOFT® 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 RIDASOFT® Win.NET.

L'évaluation du test RIDASCREEN® UST 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 d'UST 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 d'UST 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 d'UST correspondante dans l'échantillon non dilué est donc de 16 µg/ml.

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

Pour une dilution au 1/100, sélectionner : RIDASOFT® Win.NET, méthode UST100.met.

Pour une dilution au 1/200, sélectionner : RIDASOFT® Win.NET, méthode UST200.met.

La concentration est exprimée en µg/ml.

## 12. Limites de la méthode

Du fait de son immunogénicité, le test RIDASCREEN® UST Monitoring détecte la partie libre et fonctionnellement active de l'UST et non la partie de l'UST qui est liée aux anticorps dirigés contre l'ustekinumab.

Des concentrations individuelles d'ustékinumab, mesurées à l'aide du test RIDASCREEN® UST Monitoring ne sont pas suffisantes à elles seules 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	0,009
2	0,085
3	0,306
4	0,608
5	1,637
6	2,660

### 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 d'UST 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)	0,61	1,65	3,07	8,37
ET	0,04	0,08	0,18	0,76
% CV	<b>5,9</b>	<b>5,0</b>	<b>6,0</b>	<b>9,0</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 d'UST 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 ( $\mu\text{g/ml}$ )	0,58	1,62	3,01	8,65
ET	0,03	0,08	0,15	0,73
% CV	4,4	4,9	4,8	8,4

### 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 d'UST, soit une spécificité de 100 %.

#### 13.3.2 Interférence

Un panel de 25 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 un échantillon, une concentration détectable d'UST de 0,12  $\mu\text{g/ml}$  a été mesurée. Ainsi, le facteur rhumatoïde risque d'interférer avec le test RIDASCREEN® UST Monitoring mais seulement de façon minime 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, golimumab et védolizumab.

### 13.4 Sensibilité analytique

La limite de détection a été définie comme 0,12 ng/ml. Avec un facteur de dilution de 1/100, elle correspond à 0,01  $\mu\text{g/ml}$ .

### 13.5 Récupération

15 échantillons négatifs à l'UST ont été enrichis de différentes concentrations en UST. D'après les valeurs de DO de cette mesure, la concentration en UST a été déterminée à l'aide de la courbe standard et la récupération a été calculée. La récupération moyenne s'élève à 98 % (tableau 5).

**Tableau 5** : Récupération de 15 échantillons négatifs à l'UST enrichis de différentes concentrations en UST

<b>Valeur de référence</b>			
<b>Matrice</b>	<b>N°</b>	<b>UST (µg/ml)</b>	<b>Récupération (%)</b>
<b>Valeur de référence 0,79 µg/ml</b>			
Sérum	1	0,72	90 %
	2	0,78	98 %
	3	0,82	104 %
	4	0,74	94 %
	5	0,70	89 %
Plasma EDTA	6	0,71	89 %
	7	0,82	104 %
	8	0,76	96 %
	9	0,74	94 %
	10	0,74	93 %
Plasma citraté	11	0,79	99 %
	12	0,81	102 %
	13	0,70	88 %
	14	0,73	92 %
	15	0,74	94 %
<b>Matrice</b>	<b>N°</b>	<b>UST (µg/ml)</b>	<b>Récupération (%)</b>
<b>Valeur de référence 3,26 µg/ml</b>			
Sérum	1	3,34	102 %
	2	3,43	105 %
	3	3,21	99 %
	4	2,95	90 %
	5	3,23	99 %
Plasma EDTA	6	3,42	105 %
	7	3,31	102 %
	8	3,20	98 %
	9	3,34	102 %
	10	3,39	104 %
Plasma citraté	11	3,11	95 %
	12	2,97	91 %
	13	3,14	96 %
	14	3,27	100 %
	15	3,20	98 %
<b>Matrice</b>	<b>N°</b>	<b>UST (µg/ml)</b>	<b>Récupération (%)</b>
<b>Valeur de référence 8,99 µg/ml</b>			
Sérum	1	8,77	98 %
	2	10,00	111 %
	3	9,33	104 %
	4	8,78	98 %
	5	8,07	90 %

Plasma EDTA	6	9,63	107 %
	7	8,97	100 %
	8*	9,49	106 %
	9	8,50	95 %
	10	9,32	104 %
	11	9,37	104 %
	12	8,75	97 %
	13	8,15	91 %
	14	8,95	100 %
	15	8,90	99 %
<b>Moyenne</b>			<b>98 %</b>

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

Un panel d'échantillons cliniques composé de 15 échantillons a été analysé avec le test RIDASCREEN® UST Monitoring puis les résultats ont été comparés à ceux des tests de référence (UST ELISA développé à la KU Leuven). Un coefficient de corrélation de 0,97 a été déterminé.

Tous les échantillons présentant des taux d'UST mesurables avec le test de référence ont été détectés positifs (14 échantillons), d'où une sensibilité diagnostique de 100 %.










## 14. Historique des versions

**Tableau 6** : Historique des versions


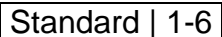
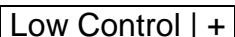
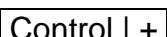
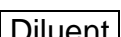
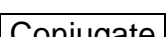
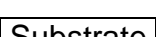
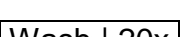

Numéro de version	Chapitre et description
2020-07-07	Document initial

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Consulter 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 au test

	Plaque de microtitration
	Étalons 1 à 6
	Contrôle positif bas
	Contrôle positif
	Tampon de dilution d'échantillon
	Conjugué
	Substrat
	Tampon de lavage (concentré 20 fois)
	Réactif d'arrêt

## 16. Bibliographie

1. Benson JM, Peritt D, Scallon BJ, et al. A human monoclonal antibody targeting interleukin-12 and interleukin-23 for treatment of immune-mediated disorders. *Mabs* 2011;3:535-545.
2. Feagan BG, Sandborn WJ, Gasink C, et al. Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. *N Engl J Med* 2016;375:1946-1960.
3. Leonardi CL, Kimball AB, Papp KA et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1). *Lancet* 2008;371:1665-1674.
4. Papp KA, Langley RG, Lebwohl M et al. Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 52-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 2). *Lancet* 2008;371:1675-1684.
5. Battat R, Kopylov U, Bessissow T, et al. Association between ustekinumab trough concentrations and clinical, biomarker, and endoscopic outcomes in patients with Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017;15:1427-1434.
6. Adedokun OJ, Xu Z, Gasink C, et al. Pharmacokinetics and exposure response relationships of ustekinumab in patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2018;154:1660-1671.
7. Soufflet N, Boschetti G, Roblin X et al. Concentrations of Ustekinumab During Induction Therapy Associate With Remission in Patients With Crohn's Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019;pii:S1542-3565(19)30248-4.
8. Van den Berghe N, De Keyser E, Soenen R, et al. Clinical response correlates with 4-week post injection ustekinumab concentrations in moderate-to-severe psoriasis patients. *Br J Dermatol* 2019;doi:10.1111/bjd.18016
9. Vermeire S, Gils A, Accossato P, et al., Immunogenicity of biologics in inflammatory bowel disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2018;11:1756283X17750355.