


LISA TRACKER Duo Adalimumab

REF LTA 005


Français


DEFINITION

Le coffret **LISA-TRACKER Duo Adalimumab** () permet le dosage par méthode ELISA de l'Adalimumab (anti-TNF α) ainsi que des anticorps anti-Adalimumab, dans le sérum ou plasma. Ces tests sont quantitatifs et peuvent s'effectuer de manière individuelle ou de manière simultanée grâce à un protocole de dosage uniformisé.

VALEUR DIAGNOSTIQUE

Les anti-TNF α sont des agents thérapeutiques largement utilisés pour traiter des patients atteints par diverses maladies inflammatoires. L'Adalimumab est l'un des anti-TNF α préconisé pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, la maladie de Crohn, la spondylarthrite ankylosante, etc. C'est un anticorps monoclonal totalement humanisé capable de se fixer au TNF α . Il permet ainsi de bloquer l'action du TNF α responsable de l'état inflammatoire. Cependant, au cours du traitement, certains patients peuvent développer des anticorps dirigés contre l'Adalimumab. Il en résulte une diminution du taux plasmatique de l'anti-TNF α ainsi qu'une réapparition ou une augmentation des symptômes de la maladie.


Le coffret **LISA-TRACKER Duo Adalimumab** () permet le dosage de 2 paramètres : Adalimumab et anticorps anti-Adalimumab. Ce coffret permet aux praticiens de suivre au cours du temps l'évolution du taux de ces 2 paramètres dans le plasma/sérum chez un patient.

Le coffret **Lisa tracker Adalimumab** () est calibré selon le standard international NIBSC/WHO (cat:17/236) pour l'Adalimumab.

ECHANTILLONS

- Les dosages peuvent être effectués sur plasma (tubes de prélèvement : EDTA, Héparine ou Citrate) ou sérum.
- Eviter d'utiliser des prélèvements congelés et décongelés plus de 1 fois.
- Afin de limiter toutes fixations non spécifiques, il est conseillé de centrifuger et de filtrer les échantillons congelés depuis plus de 6 mois et troubles.

PRINCIPE DES TESTS

Le coffret **LISA-TRACKER Duo Adalimumab** () a été validé pour suivre le taux d'Adalimumab et le taux en anticorps anti-Adalimumab (pour les patients utilisant le médicament original Humira®, ou utilisant des biosimilaires comme l'ABP501 (Amgevita®) et le SB5 (Imraldi®)).

A) Dosage de l'Adalimumab

42 déterminations

L'antigène TNF α humain est adsorbé sur un support solide constitué de 6 barrettes de 8 micropuits (microplaque).

- Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans un puits de la microplaque. S'il contient de l'Adalimumab, celui-ci va se fixer au TNF α adsorbé. Après incubation, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non-fixés.
- On ajoute ensuite un anticorps polyclonal de lapin anti-Adalimumab biotinylé. Après incubation, un deuxième lavage permet d'éliminer l'excès d'anticorps.
- Ensuite, la streptavidine conjuguée à la peroxydase de Raifort est ajoutée. Elle se fixe au complexe « TNF α / Adalimumab / anti-ADA biotinylé » précédemment formé. Après incubation, un troisième lavage permet d'éliminer l'excès de conjugué.
- L'étape de chromogénèse est réalisée en déposant le substrat de l'enzyme: TMB (3,3',5,5' tétraméthylbenzidine). Au cours de celle-ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'Adalimumab présente dans l'échantillon.
- L'addition de H₂SO₄ permet de bloquer la réaction enzymatique.
- La lecture des densités optiques à 450 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape de réalisation du test.
- Une gamme étalon permet de définir la quantité d'Adalimumab (μ g/ml) présente dans l'échantillon.

B) Dosage des anticorps anti-Adalimumab

L'Adalimumab est adsorbé sur un support solide constitué de 6 barrettes de 8 micropuits (microplaque).

- Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans un puits de la microplaque. S'il contient des anticorps anti-Adalimumab, ceux-ci vont se fixer à l'Adalimumab adsorbé. Après incubation, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non-fixés.
- On ajoute ensuite de l'Adalimumab biotinylé. Après incubation, un deuxième lavage permet d'éliminer l'excès d'anticorps.
- Ensuite, la streptavidine conjuguée à la peroxydase de Raifort est ajoutée. Elle se fixe au complexe « Adalimumab adsorbé / anticorps anti-Adalimumab / Adalimumab biotinylé » précédemment formé. Après incubation, un troisième lavage permet d'éliminer l'excès de conjugué.
- L'étape de chromogénèse est réalisée en déposant le substrat de l'enzyme : TMB (3,3',5,5' tétraméthylbenzidine). Au cours de celle-ci, se développe une coloration proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-Adalimumab présente dans l'échantillon.
- L'addition de H₂SO₄ permet de bloquer la réaction enzymatique.

- La lecture des densités optiques à 450 nm sur un spectrophotomètre constitue la dernière étape de réalisation du test.
- Une gamme étalon permet de définir la quantité d'anticorps anti-Adalimumab (ng/ml) présente dans l'échantillon.

COMPOSITION DU COFFRET

Le coffret est composé de 3 familles de réactifs :

Couleur	Réactifs « dosage Adalimumab »	Réactifs « dosage anticorps anti-Adalimumab »	Réactifs « communs »
bouchons des flacons de réactifs	Bleu	Marron ou Noir	Vert, Blanc, Noir ou Violet
micropuits	Bleu	Noir	-

A) Réactifs spécifiques au dosage de l'Adalimumab

Une microplaque de barrettes bleues amovibles, sensibilisée par du TNF α humain.	MP	6 barrettes
Cinq flacons « Etalon - Adalimumab », (μ g/ml). <u>Prêts à l'emploi.</u> <u>Ils peuvent être utilisés plusieurs fois.</u> La quantité d'Adalimumab est indiquée sur le flacon. Bouchons bleus.	ADA CAL n	5 x 1,5ml
Flacon « contrôle positif - Adalimumab », (μ g/ml). <u>A diluer.</u> <u>Il peut être utilisé plusieurs fois.</u> Les valeurs attendues (μg/ml) sont indiquées sur le flacon. Bouchon bleu.	ADA CONTROL +	1 x 250 μ l
Flacon d'anticorps biotinylé. <u>Prêt à l'emploi.</u> Bouchon bleu.	ADA Ab BIOT	1 x 7,5ml

B) Réactifs spécifiques au dosage des anticorps anti-Adalimumab

Une microplaque de barrettes noires amovibles, sensibilisée par de l'Adalimumab.	MP	6 barrettes
Cinq flacons « Etalon - anti-Adalimumab », (ng/ml). <u>Prêts à l'emploi.</u> <u>Ils peuvent être utilisés plusieurs fois.</u> La quantité en anticorps anti-Adalimumab est indiquée sur le flacon. Bouchon marron	A-ADA CAL n	5 x 1,5ml
Flacon « contrôle positif - anti-Adalimumab », (ng/ml). <u>A diluer.</u> <u>Il peut être utilisé plusieurs fois.</u> Les valeurs attendues (ng/ml) sont indiquées sur le flacon. Bouchon marron.	A-ADA CONTROL +	1 x 1ml

Flacon d'anticorps biotinylé <u>Prêt à l'emploi.</u> Bouchon noir.	A-ADA Ab BIOT	1 x 7,5ml
---	---------------	-----------

C) Réactifs communs

Flacon de streptavidine conjuguée à la peroxydase. <u>Prêt à l'emploi.</u> Bouchon vert.	CONJ HRP	1 x 12ml
Flacon de Tampon Phosphate-Tween pH 7,2 (concentré 10x) - <u>A reconstituer en eau distillée.</u> Bouchon blanc.	BUF WASH 10x	1 x 100ml
Flacon de Substrat (TMB). <u>Prêt à l'emploi.</u> Bouchon noir.	SUBS TMB	1 x 12ml
Flacon de solution d'arrêt H ₂ SO ₄ (0.25 N). <u>Prêt à l'emploi.</u> Bouchon violet.	SOLN STOP	1 x 15ml

MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI

- Eau distillée
- Pipettes de précision
- Lecteur muni d'un filtre 450 nm
- Peigne de lavage 8 canaux.

STABILITE ET CONDITIONS DE CONSERVATION

- Tous les réactifs et les barrettes de puits sensibilisées doivent être conservés entre +2°C et +8°C dans leur conditionnement d'origine.
- Ne pas utiliser un coffret dont les dates de péremption sont dépassées.
- Après la première ouverture, conserver les barrettes non utilisées à l'intérieur de la pochette plastique en présence du sachet déshydratant, correctement refermée et les remettre immédiatement entre +2°C et +8°C.

PREPARATION DES REACTIFS

A l'exception du TDL, qui peut être préparé à l'avance, les réactifs doivent être préparés de manière extemporanée.

1. Tampon de dilution et de lavage (TDL)

- Diluer le Tampon Phosphate-Tween concentré au 1/10 en eau distillée.

BUF	WASH	10x
-----	------	-----

- Durée de conservation : 3 mois entre +2°C et +8°C (ne plus utiliser si des signes de contaminations ou de modifications apparaissent).

Remarque : en présence de cristaux dans la solution concentrée, placer le flacon 15 min. à +37°C avant utilisation.

2. Préparation des échantillons et des contrôles positifs




a) Echantillons

- Dosage de l'Adalimumab** : les diluer au 1/201 en tampon TDL (exemple : 5 μ l + 1ml de TDL). Agiter vigoureusement au vortex.
- Dosage des anticorps anti-Adalimumab** : les diluer au 1/2 en tampon TDL (exemple : 130 μ l + 130 μ l de TDL). Agiter vigoureusement au vortex.

b) Contrôles positifs

- **Dosage de l'Adalimumab** : le diluer au 1/201 en tampon TDL (exemple : 5µl + 1ml de TDL). Agiter vigoureusement au vortex.
 - **Dosage des anticorps anti-Adalimumab** : le diluer au 1/2 en tampon TDL (exemple : 130µl + 130µl de TDL). Agiter vigoureusement au vortex.
- 3. Utilisation des anticorps biotinylés - prêts à l'emploi**
- Estimer le volume nécessaire à la manipulation et les transférer dans un tube à partir duquel se fera le dépôt.
- 4. Utilisation du conjugué (streptavidine-HRP) - prêt à l'emploi**
- Estimer le volume nécessaire à la manipulation et le transférer dans un tube à partir duquel se fera le dépôt.
- 5. Utilisation du substrat - prêt à l'emploi**
- Estimer le volume nécessaire à la manipulation et le transférer dans un tube opaque à partir duquel se fera le dépôt.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Retirer tous les réactifs hors de leur logement de conditionnement et les ramener impérativement à température ambiante (+18°C / +25°C) au minimum une demi-heure avant de commencer le dosage.
- La température des réactifs peut influencer le résultat final.
- S'assurer que les plaques soient bien égouttées après chaque lavage.
- Ne pas utiliser les réactifs si des signes de contaminations ou de modifications apparaissent.
- *Les étalons et les contrôles sont d'origine humaine. Pour chacun, les recherches d'anticorps anti-HIV 1 et 2, anti-HCV et d'antigènes de l'hépatite B se sont révélées négatives. S'agissant de produits potentiellement infectieux, il est toutefois nécessaire de les manipuler avec les précautions d'usage.*
- Les réactifs en solution (excepté le substrat & la solution d'arrêt) contiennent comme agent de conservation, de l'azide de sodium à une concentration <0.1% ou du ProClin® 300 à une concentration <0.6%. Ne pas avaler et éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. L'azide de sodium peut former des mélanges explosifs lors de son élimination dans les canalisations de cuivre ou de plomb. Rincer abondamment lors de telles éliminations.
-  À cette concentration, le ProClin® 300 peut être irritant pour les yeux, la peau et nuisible en cas d'ingestion en quantités importantes. C'est un sensibilisant cutané; une exposition prolongée ou répétée peut entraîner une réaction allergique chez certains sujets sensibles.
- Le coffret **LISA-TRACKER Duo Adalimumab** () a été élaboré dans le respect du Règlement (CE) n° 1272/2008 en ce qui concerne la classification, l'étiquetage et l'emballage des substances et des mélanges.
- **LISA-TRACKER Duo Adalimumab** () a été optimisé pour les conditions opératoires précisées dans cette notice. Le non-respect des dilutions, de la préparation des réactifs, du protocole ou la substitution d'un réactif par un autre produit peuvent affecter les performances finales du test.

MODE OPERATOIRE

1. Préparation du test

Utiliser la feuille de travail contenue dans le coffret pour noter la localisation des échantillons.

Pour chaque essai, et pour chaque spécificité de dosage, prévoir :

- 5 puits « étalon » (gamme de calibration)
- 1 puits « contrôle positif »
- 1 puits par échantillon

Dans le cas d'un dosage « simultané » placer les barrettes correspondantes à chaque spécificité sur un support de plaque.

Remarque :

Dans le cadre de l'utilisation d'un automate de dilution/répartition, placer les barrettes dans l'ordre suivant : dosage de l'Adalimumab puis dosage des anti-Adalimumab.

2. Incubation des étalons, des contrôles positifs et des échantillons

Déposer 100µl par puits pour chaque étalon.

Déposer 100µl par puits de chaque contrôle dilué.

Déposer 100µl d'échantillons dilués dans les puits correspondant aux spécificités recherchées.

Incuber 40 minutes à température ambiante.

Vider les puits par retournement de la plaque.

Procéder à une série de 3 lavages en tampon de dilution et de lavage (TDL) (300µl/puits).

Éliminer le liquide résiduel en tamponnant la plaque sur un papier absorbant.

3. Incubation de l'anticorps biotinylé

Déposer 100µl d'anticorps biotinylé spécifique, prêt à l'emploi, dans tous les puits respectifs.

Incuber 20 minutes à température ambiante.

Vider les puits par retournement de la plaque.

Procéder à une série de 3 lavages en tampon de dilution et de lavage (TDL) (300µl/puits).

Éliminer le liquide résiduel en tamponnant la plaque sur un papier absorbant.

4. Incubation du Conjugué

Déposer 100µl de conjugué prêt à l'emploi dans tous les puits.

Incuber 15 minutes à température ambiante.

Vider les puits par retournement de la plaque.

Procéder à une série de 3 lavages en tampon de dilution et de lavage (TDL) (300µl/puits).

Éliminer le liquide résiduel en tamponnant la plaque sur un papier absorbant.

5. Incubation du Substrat

Déposer 100µl de substrat dans tous les puits.

Incuber 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière.

6. Arrêt de la réaction

Ajouter 100µl de H₂SO₄ dans tous les puits.

7. Lecture

Lire la densité optique de chaque puits avec un lecteur de microplaques muni d'un filtre 450nm au cours des 30 minutes suivant l'arrêt de la réaction.

RESULTATS ET INTERPRETATION

A) Dosage de l'Adalimumab

- La densité optique (DO) de l'étalon 1 doit être au moins égale à 0.8.
- La valeur (µg/ml) du contrôle positif doit être comprise dans la fourchette d'acceptation inscrite sur le flacon.
- Tracer une *courbe d'étalonnage polynomiale de degré 4 ou de type 4PL*, en portant en abscisse (axe des X) la quantité d'Adalimumab (µg/ml) de chaque étalon et, en ordonnée (axe des Y), la DO correspondante.
- La quantité d'Adalimumab de l'échantillon dosée peut être lue directement sur la courbe.
- Tout échantillon possédant une DO supérieure à celle de l'étalon 1 est considéré « hors-gamme ». Il peut être redilué afin d'estimer précisément la quantité d'Adalimumab. Dans ce cas, il faut tenir compte du facteur de dilution.

B) Dosage des anticorps anti-Adalimumab

- La densité optique (DO) de l'étalon 1 doit être au moins égale à 0.8.
- La valeur (ng/ml) du contrôle positif doit être comprise dans la fourchette d'acceptation inscrite sur le flacon.
- Tracer la courbe d'étalonnage (polynomiale) en portant en abscisse (axe des X) la quantité d'anticorps anti-Adalimumab (ng/ml) de chaque étalon et, en ordonnée (axe des Y), la DO correspondante.
- La quantité d'anticorps anti-Adalimumab de l'échantillon dosée peut être lue directement sur la courbe.
- Tout échantillon possédant une DO supérieure à celle de l'étalon 1 est considéré « hors-gamme ». Il peut être redilué afin d'estimer précisément la quantité d'anticorps anti-Adalimumab. Dans ce cas, il faut tenir compte du facteur de dilution.

CARACTERISTIQUES ET PERFORMANCES DES DOSAGES

Limite de détection / Seuil de positivité

Estimée à partir d'une population « individus sains » :

- 150 échantillons pour l'Adalimumab
- 134 échantillons pour l'anti-Adalimumab.

Limite de détection Adalimumab	Limite de détection Anti-Adalimumab
0,3 µg/ml	10 ng/ml
> 95 ^{ème} percentile	> 95 ^{ème} percentile

Plage de mesure

Adalimumab	Anti-Adalimumab
0,3 µg/ml - 20 µg/ml	10 ng/ml - 160 ng/ml

Etude des substances interférentes

LISA-TRACKER Duo Adalimumab (Theradiag) a été évalué :

- sur des échantillons en solution complétés avec les composés suivants : bilirubine (à 0,2 mg/ml), hémoglobine (à 2 mg/ml), triglycérides (à 10 mg/ml) et facteurs rhumatoïdes (à 1000 UI/ml).

⇒ Aucune interférence n'a été détectée.

Etude des réactions croisées

LISA-TRACKER Duo Adalimumab (Theradiag) a été évalué :

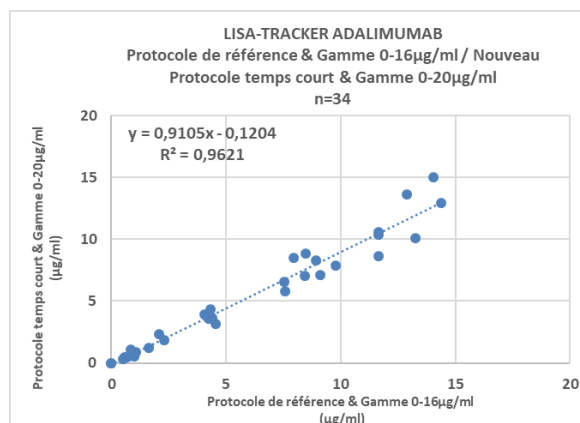
- sur une population de sérums de patients traités par d'autres anti-TNF thérapeutiques (Infliximab, Certolizumab, Etanercept et Golimumab) et par un anti-CD20 (Rituximab).
- ⇒ Aucune réaction croisée n'a été détectée.

Précision

Paramètres	Intra-essai 10 tests dans le même essai		Inter-essais 2 tests dans 6 essais différents	
	Valeur moyenne	CV (%)	Valeur moyenne	CV (%)
Adalimumab (µg/ml)	0.5	13.2	0.7	15.0
	7.5	4.5	8.2	10.3
	14.5	12.1	14.5	19.5
Anti-Adalimumab (ng/ml)	24	4.1	26	8.4
	65	2.9	73	11.1
	128	2.8	139	5.5

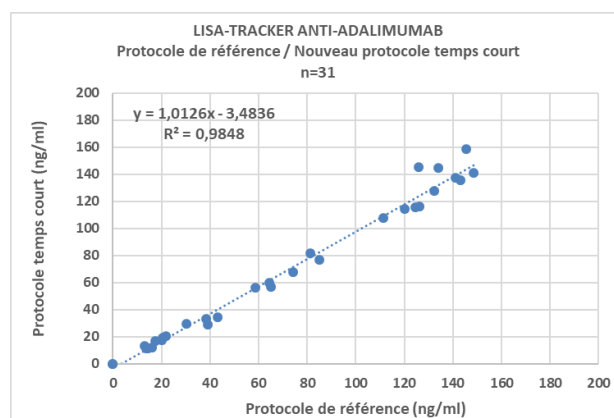
Corrélation :

Les performances du **dosage de l'Adalimumab – Protocole temps court & Gamme de mesure élargie (0 à 20 µg/ml)** - ont été comparées à celles obtenues avec l'ancien kit Protocole de référence & gamme de mesure (0 à 16 µg/ml).



⇒ L'analyse de la courbe de régression linéaire montre que les résultats obtenus avec les deux gammes, sont équivalents.

Les performances du **dosage de l'Anti-Adalimumab – Protocole temps court** - ont été comparées à celles obtenues avec l'ancien kit Protocole de référence.



⇒ L'analyse de la courbe de régression linéaire montre que les résultats obtenus avec les deux gammes, sont équivalents.

LIMITES

L'efficacité de ce kit n'est confirmée que pour les sérums / plasma humains, l'applicabilité des autres types d'échantillons n'est pas vérifiée.

Des résultats fiables et reproductibles seront obtenus lorsque la procédure de dosage est effectuée conformément aux instructions et dans le respect des bonnes pratiques de laboratoire.

Le diagnostic clinique ne doit pas être établi sur la base des résultats d'un seul résultat de test mais doit intégrer toutes les conclusions cliniques et de laboratoire.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'utiliser des contrôles de qualité interne ou externe pour les différentes spécificités. Les contrôles **IMMUNO-TROL Adalimumab** ou **anti-Adalimumab** (Theradiag), réf: LTA 002-PC ou LTA 003-PC, renferment de l'**Adalimumab** ou des anticorps dirigés contre l'**Adalimumab**. Ils sont à tester de façon identique à celle des échantillons.

BIBLIOGRAPHIE

Ainsworth MA & al. Tumor necrosis factor-alpha binding capacity and anti-infliximab antibodies measured by fluidphase radioimmunoassays as predictors of clinical efficacy of infliximab in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol.* 2008 Apr;103(4):944-8.

Afif W & al. Clinical Utility of Measuring Infliximab and Human Anti-Chimeric Antibody Concentrations in Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:1133–1139.

Arends S & al. The formation of autoantibodies and antibodies to TNF- α blocking agents in relation to clinical response in patients with ankylosing spondylitis. *Clin Exp Rheumatol.* 2010 Sep-Oct;28(5):661-8.

Assa A & al. Proactive Monitoring of Adalimumab Trough Concentration Associated With Increased Clinical Remission in Children With Crohn's Disease Compared With Reactive Monitoring *Gastroenterology* . 2019 Oct;157(4):985-996.e2.

Bartelds GM & al. Development of antidrug antibodies against adalimumab and association with disease activity and treatment failure during long-term follow-up. *JAMA.* 2011 Apr 13;305(14):1460-8.

Bendtsen K. Is There a Need for Immunopharmacologic Guidance of Anti-Tumor Necrosis Factor Therapies. *ARTHRITIS & RHEUMATISM* Vol. 63, No. 4, April 2011, pp 867–870.

Bressler B & al. Clinical Practice Guidelines for the Medical Management of Nonhospitalized Ulcerative Colitis: The Toronto Consensus. *Gastroenterology* 2015;148:1035 – 1058.

Choon Jin Ooi & al. Best practices on immunomodulators and biologic agents for ulcerative colitis and Crohn's disease in Asia. *Intest Res,* May 31, 2019:1-26.

Choy & al. Efficacy of a novel PEGylated humanized anti-TNF (CDP870) in patients with rheumatoid arthritis : a phase II double-blinded, randomized, dose escalating trial. *Rheumatology* 2002;41:1133-1137.

Clinical Guideline: Management of Crohn's Disease in Adults. *Am J Gastroenterol* 2018; 113:481–517.

Desroches M & al. Treatment failure with antagonists of TNF- α : mechanisms and implications for the care of patients. *Eur. Cytokine Netw.,* Vol. 21 n° 4, December 2010, 226-31.

Diagnostics Guidance [DG22] on Therapeutic monitoring of TNF-alpha Inhibitors in Crohn's Disease.
<https://www.nice.org.uk/guidance/dg22/chapter/1-Recommendations>

ECCO-ESGAR Guideline for Diagnostic Assessment in IBD Part 1: Initial diagnosis, monitoring of known IBD, detection of complications. *Journal of Crohn's and Colitis,* 2018, 1–32.

Feuerstein J D. & al. Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology.* 2017:1-8.

Flanagan E. & al. Infliximab, Adalimumab and Vedolizumab concentrations across pregnancy and vedolizumab concentrations in infants following intrauterine exposure *Aliment Pharmacol Ther.* 2020 Sep 27.

Gibson DJ & al. Review article: determination of the therapeutic range for therapeutic drug monitoring of adalimumab and infliximab in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2020 Mar;51(6):612-628.

Gomollón F & al. 3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease. *J Crohns Colitis.* 2016:1-23.

Greuter T & al. Therapeutic Drug Monitoring to Guide Clinical Decision Making in Inflammatory Bowel Disease Patients with Loss of Response to Anti-TNF: A Delphi Technique-Based Consensus. *Digestion.* 2019 Aug 28:1-9.

Grossi V & al. Anti-adalimumab and anti-certolizumab antibodies titers after discontinuation of adalimumab: two case reports. *Clin Chem Lab Med.* 2019 Oct 30.

Hässler S & al. Clinicogenomic factors of biotherapy immunogenicity in autoimmune disease: A prospective multicohort study of the ABIRISK consortium *PLoS Med.* 2020 Oct 30;17(10):e1003348

Jaminitski & al. The presence or absence of antibodies to infliximab or adalimumab determines the outcome of switching to etanercept. *Rheum Dis.* 2011 Feb;70(2):284-8.

Kennedy NA & al. Predictors of anti-TNF treatment failure in anti-TNF-naïve patients with active luminal Crohn's disease: a prospective, multicentre, cohort study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2019 May;4(5):341-353..

Khan A & al. New Zealand Society of Gastroenterology Guidelines on Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease. *N Z Med J.* 2019 Mar 8;132(1491):46-62.

Koren & al. Recommendation on risk-based strategies for detection and characterization of antibodies against biotechnology products. *Journal of Immunological Methods,* 333 (2008) 1-9.

Korswagen LA & al. Venous and Arterial Thromboembolic Events in Adalimumab-Treated Patients With Anti-adalimumab Antibodies. *ARTHRITIS & RHEUMATISM* Vol. 63, No. 4, April 2011, pp 877–883.

Labetoulle R & al. Prolonged Persistence of Adalimumab Transferred From Mother to Infant During Pregnancy. *Ann Intern Med.* 2018 Mar 6.

Lamb CA & al. British Society of Gastroenterology consensus guidelines on the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut* 2019;0:1–106.

Lambrescak E & al. Duration of combination therapy and risk of treatment failure in patients with inflammatory bowel disease *Clin Res Hepatol Gastroenterol.* 2020 Sep 3

Little RD & al. Comparison of adalimumab serum drug levels when delivered by pen versus syringe in patients with inflammatory bowel disease. An international, multicentre cohort analysis. *J Crohns Colitis.* 2019 May 15.

Mahil SK & al. Predicting treatment response in psoriasis using serum levels of adalimumab and etanercept: a single-centre, cohort study. *Br J Dermatol.* 2013 Aug;169(2):306-13.

Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care—An Evidence-based Guideline. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018 May 30.

Marcus Harbord & al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 2: Current Management. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2017, 1–24.

Martelli L & al. Cost-effectiveness of drug monitoring of anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease and rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Gastroenterol*. 2017 Jan;52(1):19-25

Marotte H & al. Tapering Without Relapse in Rheumatoid Arthritis Patients With High TNF Blocker Concentrations: Data from STRASS Study *Ann Rheum Dis* . 2020 Jul;79(7):e81..

Mire-Sluis & al. Recommendation for the design and optimization of immunoassays used in the detection of host antibodies against biotechnology products. *Journal of Immunological Methods*, 289 (2004) 1-16.

Mitrev N & al. Consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Dec;46(11-12):1037-1053.

Papamichael K & al. Appropriate Therapeutic Drug Monitoring of Biologic Agents for Patients With Inflammatory Bowel Diseases. *Clin. Gastroenterology and Hepatology*, 24 March 2019

Papamichael K & al. Therapeutic drug monitoring in patients on biologics: lessons from gastroenterology *Curr Opin Rheumatol*. 2020 Jul;32(4):371-379.

Paul S & al. No Difference of Adalimumab Pharmacokinetics when dosed at 40mg Every Week or 80mg Every Other Week in IBD Patients in Clinical Remission after Adalimumab Dose Intensification *Dig Dis Sci* . 2020 Sep 16

Peyrin-Biroulet L & al. French National Consensus Clinical Guidelines for the Management of Crohn's disease. *Dig Liver Dis*. 2016.

Peyrin-Biroulet L & al. French National Consensus Clinical Guidelines for the Management of Ulcerative Colitis. *Dig Liver Dis*. 2016; 48(7):726-33.

Quistbert J & al. Incidence and risk factors for adalimumab and infliximab anti-drug antibodies in rheumatoid arthritis: A European retrospective multicohort analysis. *Semin Arthritis Rheum*. 2018 Oct 12. pii: S0049-0172(18)30176-8.

Radstake TRDJ & al. Formation of antibodies against infliximab and adalimumab strongly correlates with functional drug levels and clinical responses in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009;68:1739–1745.

Ram Raj Singh, & al. TNF α blockade in human diseases : mechanisms and future. *Clin.Immunol.*, 2008 February ; 126(2):121-136.

Roblin X & al. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2014 Jan;12(1):80-84.e2.

Roblin X & al. Development of an algorithm incorporating pharmacokinetics of adalimumab in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol*. 2014 Aug;109(8):1250-6.

Roblin X & al. Addition of Azathioprine to the Switch of anti-TNF in Patients With IBD in Clinical Relapse With Undetectable anti-TNF Trough Levels and Antidrug Antibodies: A Prospective Randomised Trial *Gut*. 2020 Jan 24.

Ruemmele F.M. & al. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *ournal of Crohn's and Colitis* (2014).

Sparado A & al. Switching from infliximab or etanercept to adalimumab in resistant or intolerant patients with spondyloarthritis: a 4-year study. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 Jun;49(6):1107-11.

Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2017;153(3):835-857.

Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology*. 2017;153:858-859.

3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2017; 11(1):3-25.

3rd European Evidence-based Consensus on the Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. *J Crohns Colitis*. 2017; 11(6):649-670.

Ungar B & al. Addition of an immunomodulator can reverse antibody formation and loss of response in patients treated with adalimumab. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Jan;45(2):276-282.

Ungar B et al. Prospective Observational Evaluation of Time-Dependency of Adalimumab Immunogenicity and Drug Concentrations: The Poetic Study. *Am J Gastroenterol*. 2018 Jun;113(6):890-898

Ward MG & al. Infliximab and adalimumab drug levels in Crohn's disease: contrasting associations with disease activity and influencing factors. *Aliment Pharmacol Ther*. 2017 Jul;46(2):150-161.

World Health Organization, WHO Expert Committee on Biological Standardization, Wadhwa Meenu, Bird Chris, Atkinson Eleanor. & al. (2019). Report on a collaborative study for proposed 1st international standard for Adalimumab. WHO/BS/2019.2365.

A) Dilution des échantillons :

Dosage de l'Adalimumab	Dosage des anticorps anti-Adalimumab
au 1/201	au 1/2

B) Dilution des contrôles positifs :

Dosage de l'Adalimumab	Dosage des anticorps anti-Adalimumab
au 1/201	au 1/2

C) Mode opératoire :

Réactifs	Mode opératoire
Etalons	100µl / puits
Contrôles positifs dilués	
Echantillons dilués	
Incubation	40 minutes à température ambiante
Lavage*	Laver 3 fois en tampon de dilution/lavage (TDL) : 3 x 300µl / puits
Anticorps secondaires biotinylés	100µl / puits (réactifs spécifiques)
Incubation	20 minutes à température ambiante
Lavage*	Laver 3 fois en tampon de dilution/lavage (TDL) : 3 x 300µl / puits
Streptavidine-HRP	100µl / puits
Incubation	15 minutes à température ambiante
Lavage*	Laver 3 fois en tampon de dilution/lavage (TDL) : 3 x 300µl / puits
Substrat (TMB)	100µl / puits
Incubation	15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière
Solution « stop »	100µl / puits

* Eliminer le liquide résiduel en tamponnant la plaque sur un papier absorbant.

D) Exemples de configuration de dosage :**a) 42 sérums à doser en Adalimumab et anti-Adalimumab**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Etalon 5	Sérum3	Sérum11	Sérum19	Sérum 27	Sérum 35	Etalon 5	Sérum3	Sérum11	Sérum19	Sérum 27	Sérum 35
B	Etalon 4	Sérum4	Sérum12	Sérum20	Sérum 28	Sérum 36	Etalon 4	Sérum4	Sérum12	Sérum20	Sérum 28	Sérum 36
C	Etalon 3	Sérum5	Sérum13	Sérum21	Sérum 29	Sérum 37	Etalon 3	Sérum5	Sérum13	Sérum21	Sérum 29	Sérum 37
D	Etalon 2	Sérum6	Sérum14	Sérum22	Sérum 30	Sérum 38	Etalon 2	Sérum6	Sérum14	Sérum22	Sérum 30	Sérum 38
E	Etalon 1	Sérum7	Sérum15	Sérum23	Sérum 31	Sérum 39	Etalon 1	Sérum7	Sérum15	Sérum23	Sérum 31	Sérum 39
F	C+	Sérum8	Sérum16	Sérum24	Sérum 32	Sérum 40	C+	Sérum8	Sérum16	Sérum24	Sérum 32	Sérum 40
G	Sérum1	Sérum9	Sérum17	Sérum25	Sérum 33	Sérum 41	Sérum1	Sérum9	Sérum17	Sérum25	Sérum 33	Sérum 41
H	Sérum2	Sérum10	Sérum18	Sérum26	Sérum 34	Sérum 42	Sérum2	Sérum10	Sérum18	Sérum26	Sérum 34	Sérum 42

Dosage
Adalimumab

Dosage anti-
Adalimumab

b) 2 patients à doser en Adalimumab et anti-Adalimumab

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Etalon 5	Etalon 5										
B	Etalon 4	Etalon 4										
C	Etalon 3	Etalon 3										
D	Etalon 2	Etalon 2										
E	Etalon 1	Etalon 1										
F	C+	C+										
G	Sérum1	Sérum1										
H	Sérum2	Sérum2										

Dosage Adalimumab	Dosage anti- Adalimumab
----------------------	----------------------------

c) 42 sérums à doser en anti-Adalimumab

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Etalon 5	Sérum3	Sérum11	Sérum19	Sérum 27	Sérum 35						
B	Etalon 4	Sérum4	Sérum12	Sérum20	Sérum 28	Sérum 36						
C	Etalon 3	Sérum5	Sérum13	Sérum21	Sérum 29	Sérum 37						
D	Etalon 2	Sérum6	Sérum14	Sérum22	Sérum 30	Sérum 38						
E	Etalon 1	Sérum7	Sérum15	Sérum23	Sérum 31	Sérum 39						
F	C+	Sérum8	Sérum16	Sérum24	Sérum 32	Sérum 40						
G	Sérum1	Sérum9	Sérum17	Sérum25	Sérum 33	Sérum 41						
H	Sérum2	Sérum10	Sérum18	Sérum26	Sérum 34	Sérum 42						

	Dosage anti- Adalimumab
--	----------------------------

INDEX DES SYMBOLES



Déclaration de conformité CE



Test ELISA



Référence produit



Numéro de Lot



Date d'expiration



Dispositif de Diagnostic *In Vitro*



Fabricant



Modifications apportées à la version précédente



Nombre de tests



Consulter les instructions d'utilisation



Limites de température



Risque biologique

CONT NaN₃

Contient de l'azide de sodium



A reconstituer



Attention





14 rue Ambroise Croizat
CS 90136 CROISSY BEAUBOURG
77435 MARNE LA VALLEE CX2
France

Tél : 01 64 62 10 12
Fax : 01 64 62 09 66

E-mail : support@theradiag.com
Internet : www.theradiag.com
