

LISA TRACKER®

Duo Infliximab

REF LTI 005



DEFINITION

Le coffret **LISA-TRACKER Duo Infliximab** (Theradiag) permet le dosage par méthode ELISA de l'Infliximab (anti-TNF α) ainsi que des anticorps anti-Infliximab, 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'Infliximab 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 chimérique 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'Infliximab. 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 Infliximab** (Theradiag) permet le dosage de 2 paramètres : Infliximab et anticorps anti-Infliximab. Ce coffret permet aux praticiens de suivre au cours du temps l'évolution du taux de ces 2 paramètres dans le sérum/plasma chez un patient.

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 Infliximab** (Theradiag) a été validé pour suivre le taux d'Infliximab et le taux en anticorps anti-Infliximab (pour les patients utilisant le médicament original Remicade®, ou utilisant des biosimilaires comme le CT-P13 (Remsima® ou Inflectra®) et le SB2 (Flixabi® ou Renflexis®)).

Le coffret **LISA-TRACKER Duo Infliximab** (Theradiag) a été calibré selon le standard international de l'OMS (réf 16/170) pour l'Infliximab .

A) Dosage de l'Infliximab

42 déterminations

Français

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

- Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans un puits de la microplaqué. S'il contient de l'Infliximab, 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-Infliximab 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 / Infliximab / anti-INF 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'Infliximab 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'Infliximab (μ g/ml) présente dans l'échantillon.

B) Dosage des anticorps anti-Infliximab

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

- Dans un premier temps, l'échantillon dilué est distribué dans un puits de la microplaqué. S'il contient des anticorps anti-Infliximab, ceux-ci vont se fixer à l'Infliximab adsorbé. Après incubation, un premier lavage permet d'éliminer les éléments non-fixés.
- On ajoute ensuite de l'Infliximab 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 « Infliximab adsorbé / anticorps anti-Infliximab / Infliximab 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-Infliximab 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-Infliximab (ng/ml) présente dans l'échantillon.

COMPOSITION DU COFFRET

Le coffret est composé de 3 familles de réactifs :

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

A) Réactifs spécifiques au dosage de l'Infliximab

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

B) Réactifs spécifiques au dosage des anticorps anti-Infliximab

Une microplaque de 6 barrettes jaunes amovibles, sensibilisée par de l'Infliximab.	MP	6 barrettes
Cinq flacons « Etalon - anti-Infliximab », (ng/ml). Prêts à l'emploi. <u>Ils peuvent être utilisés plusieurs fois.</u> La quantité en anticorps anti-Infliximab est indiquée sur le flacon.		5 x 1,5ml
Bouchons jaunes.	A-INF CAL n	
Flacon « contrôle positif – anti-Infliximab », (ng/ml). A diluer. Il peut être utilisé plusieurs fois. Les valeurs attendues (ng/ml) sont indiquées sur le flacon.		1 x 1ml
Bouchon jaune.	A-INF CONTROL +	
Flacon d'anticorps biotinylé. Prêt à l'emploi.		1 x 7,5ml
Bouchon jaune.	A-INF Ab BIOT	

C) Réactifs communs

Flacon de streptavidine conjuguée à la peroxydase. Prêt à l'emploi.	CONJ HRP	1 x 12ml
Bouchon vert.		
Flacon de Tampon Phosphate-Tween pH 7,2 (concentré 10x) - A reconstituer en eau distillée.		1 x 100ml
Bouchon blanc.	BUF WASH 10x	
Flacon de Substrat (TMB). Prêt à l'emploi.	SUBS TMB	1 x 12ml
Bouchon noir.		
Flacon de solution d'arrêt H_2SO_4 (0,25 N). Prêt à l'emploi.	SOLN STOP	1 x 15ml
Bouchon violet.		

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

b) Contrôles positifs

- Dosage de l'Infliximab** : le diluer au 1/201 en tampon TDL (exemple : 5 μl + 1ml de TDL). Agiter vigoureusement au vortex.

- **Dosage des anticorps anti-Infliximab** : 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 Infliximab** () 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 Infliximab** () 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'Infliximab puis dosage des anti-Infliximab.

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).

Eliminer 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).

Eliminer 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).

Eliminer 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'Infliximab

- La densité optique (DO) de l'étalon 1 doit être au moins égale à 0.8.

- La valeur ($\mu\text{g/ml}$) 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'Infliximab ($\mu\text{g/ml}$) de chaque étalon et, en ordonnée (axe des Y), la DO correspondante.
- La quantité d'Infliximab 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'Infliximab. Dans ce cas, il faut tenir compte du facteur de dilution.

B) Dosage des anticorps anti-Infliximab

- 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-Infliximab (ng/ml) de chaque étalon et, en ordonnée (axe des Y), la DO correspondante.
- La quantité d'anticorps anti-Infliximab 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-Infliximab. Dans ce cas, il faut tenir compte du facteur de dilution.

CARACTERISTIQUES ET PERFORMANCES DES DOSAGES

Limite de détection

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

- 150 échantillons pour l'Infliximab
- 152 échantillons pour l'anti-Infliximab

Limite de détection Infliximab	Limite de détection Anti-Infliximab
0,3 $\mu\text{g/ml}$	10 ng/ml
> 95 ^{ème} percentile	> 95 ^{ème} percentile

Plage de mesure

Infliximab	Anti-Infliximab
0,3 $\mu\text{g/ml}$ - 20 $\mu\text{g/ml}$	10 ng/ml - 200 ng/ml

Etude des substances interférentes

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

- sur une population de sérum de patients traités par d'autres anti-TNF thérapeutiques (Adalimumab, Certolizumab, Etanercept et Golimumab) et par un anti-CD20 (Rituximab).

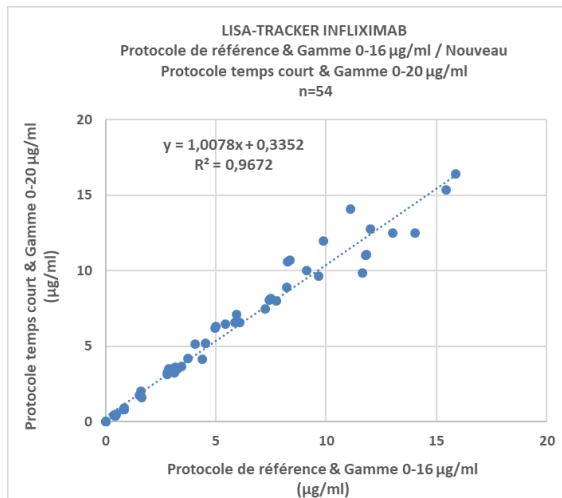
⇒ Aucune réaction croisée n'a été détectée.

Précision

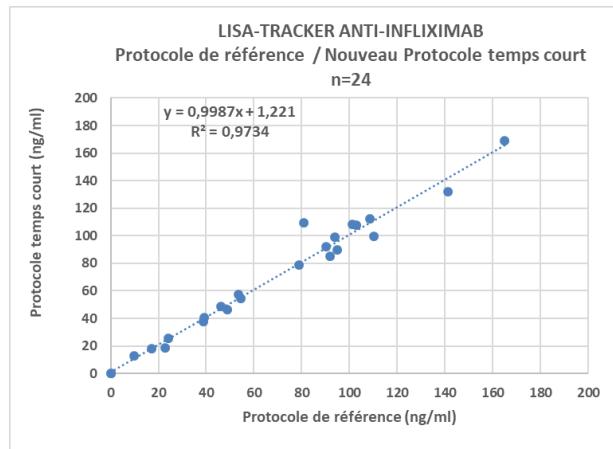
Paramètres	Intra-essai 10 tests dans le même essai		Inter-essais 2 tests dans 6 essais différents	
	Valeur moyenne	CV (%)	Valeur moyenne	CV (%)
Infliximab ($\mu\text{g/ml}$)	0.8	11.0	0.8	13.0
	7.7	3.9	7.0	8.2
	15.7	6.0	16.1	17.3
Anti-Infliximab (ng/ml)	20	5.4	17	15.8
	78	4.1	75	10.2
	159	8.5	134	13.5

Corrélation :

Les performances du **dosage de l'Infliximab – Protocole temps court & Gamme de mesure élargie (0 à 20 $\mu\text{g/ml}$)** - ont été comparées à celles obtenues avec l'ancien kit Protocole de référence & gamme de mesure (0 à 16 $\mu\text{g/ml}$).



⇒ 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-Infliximab – 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 Infliximab** ou **anti-Infliximab** (), réf: LTI 002-PC ou LTI 003-PC, renferment de l'**Infliximab** ou des anticorps dirigés contre l'**Infliximab**. 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.

Attar A & al. Cost savings using a test-based de-escalation strategy for patients with Crohn's disease in remission on optimized infliximab: A discrete event model study. Dig Liver Dis. 2019 Jan;51(1):112-119

Avouac J & al. Systematic switch from innovator infliximab to biosimilar infliximab in inflammatory chronic diseases in daily clinical practice: The experience of Cochin University Hospital, Paris, France. Semin Arthritis Rheum. 2017 Oct 5.

Baert F & al. Influence of Immunogenicity on the Long-Term Efficacy of Infliximab in Crohn's Disease. N Engl J Med 2003;348:601-8.

Ben-Horin S & al. Undetectable anti-TNF drug levels in patients with long-term remission predict successful drug withdrawal. Aliment Pharmacol Ther. 2015 Aug;42(3):356-64.

Bendtzen 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.

Benucci M & al. Correlation between HLA haplotypes and the development of antidrug antibodies in a cohort of patients with rheumatic diseases. Biologics: Targets and Therapy 2018;12 37–41

Benucci M & al. Safety, efficacy and immunogenicity of switching from innovator to biosimilar infliximab in patients with spondyloarthritis: a 6-month real-life observational study. Immunol Res. 2016 Jul 23.

Bor R & al. Clinical role, optimal timing and frequency of serum infliximab and anti-infliximab antibody level measurements in patients with inflammatory bowel disease. PLoS One. 2017 Mar 31;12(3):e0172916

Buhl S & al. Therapeutic thresholds and mechanisms for primary non-response to infliximab in inflammatory bowel disease Scand J Gastroenterol. 2020 Aug;55(8):884-890

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

Candon S & al. Clinical and biological consequences of immunization to infliximab in pediatric Crohn's disease. Clin Immunol. 2006 Jan;118(1):11-9.

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.

Coutzac C & al. Association Between Infliximab Trough Levels and the Occurrence of Paradoxical Manifestations in Patients with Inflammatory Bowel Disease: a Case-Control Study. J Crohns Colitis. 2015 Nov;9(11):982-7.

Dave MP & al. Clinical efficacy of infliximab level and anti-infliximab antibody measurement in patients with inflammatory bowel disease: An audit Indian J Gastroenterol. 2020 Oct 29.

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.

DeVries & al. Inefficacy of infliximab in ankylosing spondylitis is correlated with antibody formation. Ann Rheum Dis. 2007 Jan;66(1):133-4.

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.

Edrees & al. Anti-tumor necrosis factor (TNF) therapy in rheumatoid arthritis: correlation of TNF-alpha serumlevel with clinical response and benefit from changing dose or frequency of infliximab infusions. Clin Exp Rheumatol. 2005 Jul-Aug;23(4):469-74.

Fay S & al. The Association Between Drug Levels and Endoscopic Recurrence in Postoperative Patients with Crohn's Disease Treated with Tumor Necrosis Factor Inhibitors. Inflamm Bowel Dis. 2017 Aug 22.

Fernandes SR & al. Proactive Infliximab Drug Monitoring Is Superior to Conventional Management in Inflammatory Bowel Disease. Inflamm Bowel Dis. 2019 Jun 27

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.

Gecse KB, & al. Efficacy and Safety of the Biosimilar Infliximab CT-P13 Treatment in Inflammatory Bowel Diseases: A Prospective, Multicentre, Nationwide Cohort. J Crohns Colitis. 2016 Feb;10(2):133-40.

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.
- Gonczi L & al.** Drug persistence and need for dose intensification to adalimumab therapy; the importance of therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel diseases. *BMC Gastroenterol*. 2017 Aug 8;17(1):97
- Gonczi L & al.** Prediction of Short- and Medium-term Efficacy of Biosimilar Infliximab Therapy. Do Trough Levels and Antidrug Antibody Levels or Clinical And Biochemical Markers Play the More Important Role? *J Crohns Colitis*. 2016 Nov 12
- 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.
- Guidi L & al.** Therapeutic drug monitoring is more cost-effective than a clinically-based approach in the management of loss of response to infliximab in inflammatory bowel disease: an observational multi-centre study. *J Crohns Colitis*. 2018 May 31
- 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.
- Jentzer A & al.** Short Communication: Evaluation of infliximab and anti-infliximab LISA-TRACKER immunoassays for the therapeutic drug monitoring of SB2 infliximab biosimilar. *Ther Drug Monit*. 2018 Sep 21
- 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.
- Krzysiek R & al.** Circulating Concentration of Infliximab and Response to Treatment in Ankylosing Spondylitis: Results From a Randomized Control Study. *Arthritis & Rheumatism (Arthritis Care & Research)* Vol. 61, No. 5, May 15, 2009, pp 569–57.
- 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
- Lauret A & al.** Effects of successive switches to different biosimilars infliximab on immunogenicity in chronic inflammatory diseases in daily clinical practice. *Semin Arthritis Rheum*. 2020 Feb 19.
- Lee MW & al.** Comparison of infliximab drug measurement across three commercially available ELISA kits. *Pathology*. 2016 Aug 23
- Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care—An Evidence-based Guideline.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018 May 30.
- Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 2: Acute Severe Colitis—An Evidence-based Consensus 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.
- Marotte & al.** Circulating tumour necrosis factor-alpha bioactivity in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab: link to clinical response. *Arthritis Res Ther*. 2005;7(1):R149-55.
- 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.
- Mire-Sluis & al.** Recommandation 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.
- Nasser Y & al.** Comparison of Point-of-Care and Classical Immunoassays for the Monitoring Infliximab and Antibodies Against Infliximab in IBD. *Dig Dis Sci*. 2018 Jun 9
- Neveu B & al.** An in-Vitro Comparison of Four Different Immunoassays for the Monitoring of Infliximab Biosimilars Drug Levels *Clin Biochem*. 2020 Jan 23.
- 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.** Letter: immunogenicity of anti-TNF in elderly IBD patients. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019 Aug;50(3):336
- Paul S & al.** Letter: infliximab de-escalation based on trough levels in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2015 Oct;42(7):939-40.
- Paul S & al.** Therapeutic drug monitoring of infliximab and mucosal healing in inflammatory bowel disease: a prospective study. *Inflamm Bowel Dis*. 2013 Nov;19(12):2568-76
- Petitdidier N & al.** Real-world use of therapeutic drug monitoring of CT-P13 in patients with inflammatory bowel disease *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2020 Jan 7
- 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.
- Poullerot F & al.** Severe endoscopic lesions are not associated with more infliximab fecal loss in acute severe ulcerative colitis. *Dig Liver Dis*. 2018 Jul 10.
- 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.

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

Roblin X & al. Combination of C-reactive protein, infliximab trough levels, and stable but not transient antibodies to infliximab are associated with loss of response to infliximab in inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis. 2015 Jul;9(7):525-31.

Roblin X & al. Cost savings of anti-TNF therapy using a test-based strategy versus an empirical dose escalation in Crohn's disease patients who lose response to infliximab. Journal of Market Access & Health Policy, [S.I.], v. 3, oct. 2015.

Roblin X & al. Development and Internal Validation of a Model Using Fecal Calprotectin in Combination with Infliximab Trough Levels to Predict Clinical Relapse in Crohn's Disease. Inflamm Bowel Dis. 2017 Jan;23(1):126-132.

Roblin X & al. Distinct Thresholds of Infliximab Trough Level Are Associated with Different Therapeutic Outcomes in Patients with Inflammatory Bowel Disease: A Prospective Observational Study. Inflamm Bowel Dis. 2017 Sep 22.

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.

Schmitz EM & al. Therapeutic drug monitoring of infliximab: performance evaluation of three commercial ELISA kits. Clin Chem Lab Med. 2015 Nov 20.

Seow CH & al. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. Gut. 2010 Jan;59(1):49-54.

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.

Steenholdt C, & al. Cut-off levels and diagnostic accuracy of infliximab trough levels and anti-infliximab antibodies in Crohn's disease. Scandinavian Journal of Gastroenterology, March 2011, Vol. 46, N°3, Pages 310-318.

Takeuchi & al. Baseline tumour necrosis factor alpha levels predict the necessity for dose escalation of infliximab therapy in patients with rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis. 2011 Jul;70(7):1208-15.

Ternant D & al. An enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of Infliximab. Ther Drug Monit., 2006 April ; 28(2):169-174.

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. Infliximab therapy intensification upon loss of response: Is there an optimal trough level? Dig Liver Dis. 2019 Mar 5.

Valido A & al. Efficacy, immunogenicity and cost analysis of a systematic switch from originator infliximab to biosimilar CT-P13 of all patients with inflammatory arthritis from a single center. Acta Reumatol Port. 2019 Nov 22

Van den Bemt BJF & al. Anti-infliximab antibodies are already detectable in most patients with rheumatoid arthritis halfway through

an infusion cycle: an open-label pharmacokinetic cohort study. BMC Musculoskeletal Disorders 2011.

Vetterlein & al. No antibodies to PEG detected in patients treated with certolizumab pegol. Ann Rheum Dis 2008;67(Suppl II):236.

Vincent FB & al. Effect of serum anti-tumour necrosis factor (TNF) drug trough concentrations and antidrug antibodies (ADAb) to further anti-TNF short-term effectiveness after switching in rheumatoid arthritis and axial spondyloarthritis. Joint Bone Spine. 2016 Oct;83(5):595-7.

Wolbink GJ & al. Development of Anti-infliximab Antibodies and Relationship to Clinical Response in Patients With Rheumatoid Arthritis. ARTHRITIS & RHEUMATISM Vol. 54, No. 3, March 2006, pp711-715.

World Health Organization, WHO Expert Committee on Biological Standardization, Metcalfe, Clive, Bird, Chris, Dougall, Thomas. & al. (2017). Report on a collaborative study for proposed 1st international standard for Infliximab. WHO/BS/2017.2323.

Zufferey P & al. High level of anti-drug antibodies after intra-articular injection of anti-TNF. Rheumatology (Oxford). 2015 Dec;54(12):2291-2

SCHEMA RECAPITULATIF DU MODE OPERATOIRE

A) Dilution des échantillons :

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

B) Dilution des contrôles positifs :

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

C) Mode opératoire :

Réactifs	Mode opératoire
Etalons	
Contrôles positifs dilués	100µl / puits
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 sérum à doser en Infliximab et anti-Infliximab

	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
Infliximab

Dosage anti-
Infliximab

b) 2 sérum à doser en Infliximab et anti-Infliximab

	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
Infliximab Dosage anti-
Infliximab

c) 26 sérum à doser en anti-Infliximab

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Etalon 5	Sérum3	Sérum11	Sérum19								
B	Etalon 4	Sérum4	Sérum12	Sérum20								
C	Etalon 3	Sérum5	Sérum13	Sérum21								
D	Etalon 2	Sérum6	Sérum14	Sérum22								
E	Etalon 1	Sérum7	Sérum15	Sérum23								
F	C+	Sérum8	Sérum16	Sérum24								
G	Sérum1	Sérum9	Sérum17	Sérum25								
H	Sérum2	Sérum10	Sérum18	Sérum26								

Dosage anti-
Infliximab

INDEX DES SYMBOLES



Déclaration de conformité CE



Test ELISA



Référence produit



Numéro de Lot



Date d'expiration



Dispositif de Diagnostic *In Vitro*



Fabricant



Modifications apportés 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