

DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE À HAUTE PERFORMANCE (ESSAI HPLC-HMSA) ET PAR ELISA (IMMUNOESSAI) (RÉFÉRENCES – 2015.01.01 ET 2015.04.01)

Avis d'évaluation

1 INFORMATION GÉNÉRALE

- 1.1 **Demands** : CHUM – Pavillon Notre-Dame et HMR – Hôpital Maisonneuve-Rosemont
- 1.2 **Date de transmission de l'avis au ministre** : 23 décembre 2015
- 1.3 **Date de publication de l'avis** : 22 février 2016

Mise en garde

Le présent avis est fondé sur l'information déposée par le demandeur ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

Conflit d'intérêts

Le D^r Lambert Busque et la D^{re} Annie-Claude Labbé n'ont pas participé aux délibérations et ils se sont retirés au moment de formuler la recommandation.

Lecture externe et accompagnement scientifique

La lecture externe et l'accompagnement scientifique sont des mécanismes utilisés par l'INESSS pour assurer la qualité de ses travaux. Les lecteurs externes et les experts accompagnateurs valident les aspects méthodologiques de l'évaluation, de même que l'exactitude du contenu, en fonction de leur domaine d'expertise propre.

Pour le présent avis, l'expert consulté est le D^r Waqqas Affif, gastroentérologue au Centre universitaire de santé McGill (Hôpital Royal Victoria)

2 ANALYSES ET TECHNIQUES ÉVALUÉES

2.1 Nom des analyses

Deux demandes distinctes ont été analysées par l'INESSS. Les demandeurs ont proposé des approches techniques différentes.

Mesure quantitative par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) par essai *homogenous mobility shift assay* (HMSA) pour la détection de l'adalimumab (ADA) et des anticorps anti-ADA.

Essai immuno-enzymatique de type ELISA avec résultat quantitatif pour l'adalimumab (ADA), et résultat semi-quantitatif pour la détection des anticorps anti-ADA.

2.2 Description brève des analyses et précisions techniques et cliniques

L'adalimumab (Humira^{MC}) est un anticorps monoclonal humain dirigé contre le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), une molécule pro-inflammatoire.

Lorsqu'il est conjugué à l'ADA, le TNF- α ne peut plus exercer son activité pro-inflammatoire. Toutefois, il est possible qu'une personne traitée avec ce genre de médicament biologique développe une réponse immunitaire contre l'adalimumab en cours de traitement, et ce, par la production d'anticorps anti-ADA.

HPLC-HMSA

Cette technique d'analyse mesure la concentration sérique d'ADA libre juste avant l'administration d'une nouvelle dose, ici nommée « concentration seuil », ainsi que la présence d'anticorps anti-ADA. Le dosage des deux analytes est fait séparément, mais il repose sur une approche similaire. Pour le dosage de l'ADA libre présent dans le sérum, on utilise le TNF- α couplé à l'alexa fluor 488 (TNF-488) comme substrat. Pour le dosage des anticorps anti-ADA potentiellement présents dans le sérum, on utilise l'adalimumab couplé à l'alexa fluor 488 (ADA-488) comme substrat. La formation ainsi que la quantification de complexes TNF-488/ADA ou ADA-488/anti-ADA sont mesurées par HPLC. Les complexes formés apparaissent sous l'apparence de pics tardifs qui sont comparés au pic du substrat seul. Le calcul des proportions d'ADA ou de TNF- α libres par rapport à la portion séquestrée sous forme de complexes assure la quantification d'ADA ou des anticorps anti-ADA.

ELISA

La mesure quantitative du niveau sérique d'ADA présent dans l'échantillon est réalisée avec la trousse Promonitor[®]-ADL. Il s'agit d'un essai ELISA de type sandwich qui consiste à permettre l'hybridation de l'ADA libre présent dans le sérum à un anticorps anti-ADA humain préalablement fixé sur un support solide (micropuits). La quantification est effectuée après l'hybridation d'un deuxième anticorps monoclonal, couplé à l'enzyme HRP et dirigé contre la portion ADA des complexes ADA/anti-ADA fixés sur le support. Une réaction enzymatique utilisant un substrat chromogénique permet la quantification de l'ADA par spectrophotométrie et à l'aide d'une courbe de calibration. Le signal obtenu est proportionnel à la quantité d'ADA dans l'échantillon analysé.

La mesure semi-quantitative des anticorps anti-ADA est réalisée avec la trousse ELISA Promonitor[®]- anti-ADL. La procédure qui permet de quantifier les taux sériques d'anti-ADA est similaire à la précédente.

Ces mesures serviront à évaluer l'efficacité du traitement avec l'ADA et à prédire les réactions indésirables possibles. Selon le cas, les doses administrées peuvent être optimisées ou une autre avenue thérapeutique pourrait être envisagée. L'ADA est un médicament d'exception au Québec. Les indications reconnues par Santé Canada ainsi que les indications de paiement au Québec sont présentées à l'annexe A.

2.3 Modalités d'administration du test

HPLC-HMSA

Les prélèvements seront effectués à l'hôpital à l'aide d'une ponction veineuse. La trajectoire prévue pour l'échantillon n'a pas été explicitement détaillée.

ELISA

Les échantillons seront prélevés aux centres de prélèvement de l'hôpital Maisonneuve-Rosemont. Ils seront ensuite centrifugés, décantés et congelés avant d'être acheminés sur glace sèche au laboratoire de biochimie de l'hôpital, par les différents systèmes de courrier et transporteurs déjà en place. Une fois reçus au laboratoire, les échantillons seront enregistrés et le processus d'analyse sera immédiatement amorcé.

2.4 Société ou développeur

HPLC-HMSA

La méthode HPLC-HMSA utilisée par le demandeur a été décrite par Wang et ses collègues [2013].

ELISA

La mesure quantitative des niveaux sériques d'ADA et d'anti-ADA présents dans l'échantillon sera réalisée avec les trousse Promonitor®-ADL et Promonitor®-anti-ADL (Proteomika S.L., filiale de Progenika- Biopharma S.A., Espagne).

2.5 Statut d'homologation (Santé Canada, FDA) : La méthode ELISA repose sur l'utilisation des trousse Promonitor-ADL et Promonitor-anti-ADL. Ces deux trousse sont homologuées par Santé Canada (n^{os} d'homologation 94465 et 94466).

2.6 Valeur pondérée : HPLC-HMSA : 77,14 et ELISA : 106.

3 CONTEXTE

3.1 Patients ciblés

Les patients ciblés par la présente analyse sont ceux atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin (MII) traitée avec l'adalimumab, qui ne répondent pas au traitement ou qui ont cessé d'y répondre. L'indication principale de cette analyse est l'évaluation de l'absence ou de la perte de réponse thérapeutique chez les patients.

3.2 Description de la maladie visée

Les maladies intestinales inflammatoires (MII) comprennent notamment la maladie de Crohn (MC) et la colite ulcéreuse (CU). Il s'agit de maladies récidivantes caractérisées par une inflammation chronique du tube digestif et dont les manifestations cliniques comprennent, entre autres, des diarrhées et des douleurs abdominales [Porter, 2014].

L'inflammation résulte d'une réponse immunitaire inappropriée et elle implique la libération de plusieurs médiateurs inflammatoires, dont le TNF- α [Porter, 2014]. Les MII touchent des

patients d'âge variable, mais elles débutent habituellement avant 30 ans, avec un pic d'incidence entre 14 et 24 ans. Elles peuvent avoir un second pic, moins important en incidence, entre 50 et 70 ans [Porter, 2014]. Selon les données cumulées entre 1998 et 2000 au Canada, l'incidence moyenne pour la MC et la CU était respectivement de 13,4 cas et 11,8 cas par 100 000 personnes-années [Fedorak *et al.*, 2010]. Le Québec figure parmi les provinces où le taux d'incidence de la MC est parmi les plus élevés au pays, soit 20,2 cas/100 000 personnes-années [Fedorak *et al.*, 2010; Lowe *et al.*, 2009].

Les données du recensement 2007-2008 indiquent que la prévalence de la MC et de la CU au Canada était respectivement de 374 et 456 cas par 100 000 de population. Au Québec, entre 1993 et 2002, la prévalence de la MC est passée de 83 cas à 270 cas par 100 000 personnes [Lowe *et al.*, 2009].

Concernant la mortalité principalement attribuable à la MC et à la CU, des moyennes annuelles de 97 et de 39 décès ont été enregistrées au Canada entre 2007 et 2011, soit environ 0,06 % de tous les décès pendant la même période⁹.

3.3 Volumétries attendues

CHUM : 280 échantillons/année et HMR : 240 échantillons/année.

3.4 Spécialité médicale concernée

Gastroentérologie

3.5 Données médico-administratives

Selon les données fournies par le MSSS concernant les envois hors Québec pour 2014-2015 :

- Prometheus Lab (HPLC-HMSA) : 9 envois à 2 575 \$ l'unité pour un total de 23 175 \$;
- Université de Leuven (ELISA) : 21 envois à 87 \$ l'unité¹⁰ pour un total de 1 827\$;
- Gamma Dynacare Medical Laboratories (ELISA) : 7 envois à 295 \$ l'unité pour un total de 2 065 \$.

3.6 Brève description de la situation actuelle

Actuellement, le dosage de l'ADA et des anticorps anti-ADA est réalisé hors réseau. Le MSSS a récemment inscrit dans son répertoire une analyse semblable pour la détection de l'infliximab (IFX) et des anticorps anti-IFX par ELISA (code : 30098). Toutefois, les données concernant la volumétrie relative à cette analyse ne sont pas encore disponibles.

3.7 Brève description des avantages évoqués de l'analyse proposée

Les effets secondaires liés à la médication, l'absence de réponse primaire ou la pharmacorésistance secondaire sont des problèmes fréquemment rencontrés avec les agents anti-TNF. Ces agents possèdent une fenêtre thérapeutique étroite et ils sont dotés d'une grande variabilité interindividuelle. Par exemple, lorsque la concentration d'ADA dans l'organisme se situe sous un seuil minimal, une réponse thérapeutique adéquate ne peut être

9. Statistique Canada, CANSIM – Tableau 102-0531 – Décès, selon la cause, chapitre XI : Maladies de l'appareil digestif (K00 to K93), le groupe d'âge et le sexe, Canada, annuel (2007-2011). Disponible à : <http://www5.statcan.gc.ca/cansim/home-accueil?lang=fra&p2=50&HPA> (consulté le 30 juin 2015).

10. KU Leuven. adalimumab/golimumab/etanercept (English) [site Web]. Disponible à : <https://pharm.kuleuven.be/biotech/TherandDiagAnt/infliximab-adalimumab-hoofdfolder/adalimumab-engels> (consulté le 17 juillet 2015).

obtenue et des anticorps anti-ADA peuvent se développer. L'analyse proposée constitue un outil de pharmacovigilance favorisant l'optimisation du traitement.

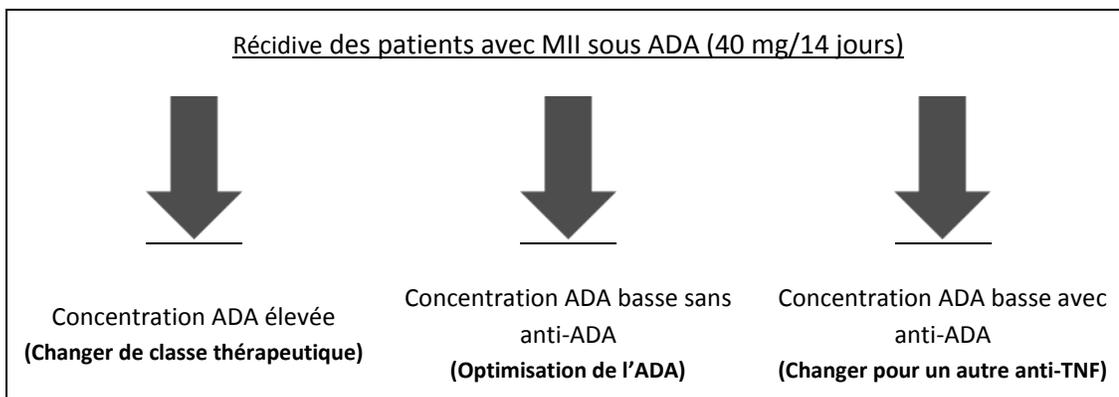
En cas d'absence ou de perte de réponse à l'ADA, l'analyse proposée permettrait d'optimiser le traitement au moyen d'une des actions cliniques suivantes (voir figure 1) :

- une intensification du régime posologique;
- un changement d'anti-TNF;
- un changement de classe thérapeutique.

Cela contribuerait à une meilleure gestion clinique des maladies en favorisant l'usage d'algorithmes de traitement tout en diminuant le recours à d'autres services de santé (visites à l'urgence, hospitalisations, visites chez le médecin, etc.).

Contrairement à la méthode ELISA, l'analyse par HPLC-HMSA inclut une étape de dissociation acide entre l'ADA et les anticorps anti-ADA potentiellement présents dans le sérum des patients. Cela permet d'effectuer l'analyse sans tenir compte du moment de la dernière prise du médicament. En effet, l'ADA est administré aux 2 semaines et sa demi-vie varie entre 10 et 20 jours¹¹. Ainsi, lorsque l'on mesure la présence d'anticorps anti-ADA avant une injection, il est possible qu'il reste jusqu'à 25 % de l'ADA en circulation¹².

Figure 1 Algorithme thérapeutique en fonction des concentrations seuils d'ADA et d'anticorps anti-ADA chez les patients en récurrence de MII sous ADA



Source : Roblin *et al.*, 2014b.

3.8 Assurance qualité

HMSA

Aucun contrôle externe de la qualité n'est disponible pour le moment, mais une stratégie de contrôle par échange d'échantillons avec un laboratoire privé est envisagée.

ELISA

Selon le demandeur, un programme d'assurance qualité sera mis sur pied afin d'assurer la fiabilité et l'intégrité des résultats, et ce, sous la responsabilité professionnelle d'un biochimiste clinique. À ce jour, il n'y a aucun programme commercial externe de contrôle de la qualité pour l'analyse de l'ADA et des anticorps anti-ADA. Un tel programme sera mis sur

11. Corporation AbbVie. Monographie d'Humira^{MC}, disponible à : http://www.abbvie.ca/content/dam/abbviecorp/ca/fr/docs/HUMIRA_PM_FR.pdf.

12. Communications personnelles avec le D^r Waqqas Afif, gastroentérologue, Hôpital Royal Victoria, Centre universitaire de santé McGill (20 avril 2015).

ped avec le laboratoire GD Diagnostics, dans lequel des échantillons anonymes seront échangés tous les trois mois entre les deux sites. Ce type de programme de contrôle de la qualité est déjà en place pour l'analyse de l'IFX et des anticorps anti-IFX.

4 DONNÉES PROBANTES

4.1 Valeur diagnostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de préciser ou d'établir un diagnostic.

4.2 Valeur pronostique

Aucune étude n'a été retenue, puisque la présente analyse n'a pas pour objectif de prévoir l'évolution de la maladie.

4.3 Valeur thérapeutique

Une étude prospective observationnelle a évalué l'association entre la pharmacocinétique de l'ADA, la rémission clinique et la guérison de la muqueuse intestinale chez 40 patients atteints de MII (22 MC et 18 CU) [Roblin *et al.*, 2014a]. Les patients répondant à un traitement d'induction à l'ADA ont reçu une thérapie de maintien. L'obtention d'une rémission clinique et d'une guérison des muqueuses a été évaluée à l'aide de critères cliniques et endoscopiques établis. Les échantillons sanguins ont été prélevés de manière à déterminer la concentration seuil d'ADA et la présence d'anticorps anti-ADA, et ce, à l'aide d'une méthode ELISA. À la suite d'un traitement d'une durée moyenne de 10,7 mois, le taux de rémission clinique était de 33 % et le taux de guérison de la muqueuse intestinale était de 40 %. La médiane de la concentration d'ADA mesurée au seuil était de 4,9 µg/ml (soit entre 1,6 µg/ml et 6 µg/ml). Des anticorps anti-ADA ont été détectés chez 9 patients (22,5 %).

La médiane de la concentration d'ADA mesurée au seuil était significativement plus élevée chez les patients en rémission clinique que chez les patients avec une maladie active (6,02 µg/ml c. 3,2 µg/ml; $p = 0,012$). Ces valeurs étaient également plus élevées chez les patients avec guérison de la muqueuse que chez les patients sans guérison de la muqueuse (6,5 µg/ml c. 4,2 µg/ml; $p < 0,005$). Concernant les titres d'anticorps anti-ADA, aucune différence significative n'a été constatée.

L'analyse d'une courbe ROC a permis d'identifier la concentration seuil optimale d'ADA relativement à la prédiction d'une guérison des muqueuses (aire sous la courbe = 0,77; $p = 0,005$). L'absence de guérison des muqueuses a été associée à des valeurs seuils d'ADA inférieures à 4,9 µg/ml (rapport de vraisemblance : 4,3; sensibilité : 66 %; spécificité : 85 %). Une analyse multivariée a démontré que les concentrations seuils et la durée du traitement à l'ADA étaient les deux seuls facteurs indépendamment associés à la guérison des muqueuses (risque relatif - RR = 0,62; intervalle de confiance à 95 % - IC95 % : 0,40-0,94; $p = 0,026$) et (RR = 0,82; IC95 % : 0,68-0,97; $p = 0,026$), respectivement [Roblin *et al.*, 2014a].

En conclusion, une concentration seuil supérieure à 4,9 µg/ml d'ADA prédit une rémission clinique et la guérison des muqueuses intestinales.

Roblin et ses collègues [2014b] ont également réalisé une étude prospective unicentrique dont l'objectif principal était de déterminer si le suivi de l'ADA pouvait prédire un échec thérapeutique suivant une intensification de la dose [Roblin *et al.*, 2014b]. Au total, 82 patients ont été inclus au traitement de maintien à l'ADA en raison d'un échec

thérapeutique documenté. Les paramètres de l'évaluation étaient la proportion des patients en rémission à 6 mois et à 1 an après une intensification de la dose ou une substitution par l'infliximab (chez 52 patients).

La concentration seuil d'ADA et la présence d'anti-ADA ont été évaluées par ELISA à partir d'un échantillon sanguin prélevé juste avant l'administration d'une nouvelle dose (ADA ou IFX). À la suite des mesures sériques effectuées, la valeur prédictive d'une rémission clinique a été calculée dans trois groupes de patients (tableaux 1 et 2) :

- concentration seuil d'ADA > 4,9 µg/ml (n = 41) et anticorps anti-ADA détectables (10 d'entre eux);
- concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/ml et anticorps anti-ADA non détectables (n = 24);
- concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/ml et anticorps anti-ADA détectables (n = 17).

Tableau 1 Réponse clinique à l'intensification de la dose d'adalimumab en fonction des paramètres du suivi thérapeutique chez des patients atteints d'une MII récidivante

	GROUPE 1 N = 41*	GROUPE 2 N = 24	GROUPE 3 N = 17
INTENSIFICATION DE LA DOSE D'ADALIMUMAB N (%)			
Patients en rémission à 6 mois	12 (29,2)	16 (67)	2 (12)
Patients en rémission à 1 an	0 (0)	13 (52)	0 (0)
Patients sans rémission	15 (37)	2 (8)	10 (58)
Survie moyenne sans récurrence [†]	5 mois (± 2)	15 mois (± 5)	4 mois (± 3)

Source : Roblin *et al.*, 2014b.

*10 patients avec anticorps anti-ADA détectables (aucune influence sur le taux de rémission).

[†]Temps entre l'optimisation de la dose et l'échec thérapeutique.

Tableau 2 Réponse clinique à la substitution de l'adalimumab par l'infliximab en fonction des paramètres du suivi thérapeutique chez des patients atteints d'une MII récidivante

	GROUPE 1 N = 29*	GROUPE 2 N = 8	GROUPE 3 N = 15
ÉCHEC DE L'INTENSIFICATION DE L'ADALIMUMAB : SUBSTITUTION PAR L'INFLIXIMAB N (%)			
Patients en rémission à 6 mois	2 (6,9)	2 (25)	12 (80)
Patients en rémission à 1 an	0 (0)	0 (0)	8 (55)
Patients sans rémission	20 (68)	4 (50)	2 (13)
Survie moyenne sans récurrence [†]	3 mois (± 2)	5 mois (± 3)	14 mois (± 7)

Source : Roblin *et al.*, 2014b.

* 6 patients avec anticorps anti-ADA détectables.

[†] Temps entre la substitution de l'ADA par l'IFX et l'échec thérapeutique.

Ces résultats démontrent ce qui suit :

- une concentration seuil d'ADA > 4,9 µg/mL (groupe 1) est associée à un échec de traitement aux deux anti-TNF (ADA et IFX) dans la majorité des cas de perte de réponse

à l'ADA; un changement de classe thérapeutique devrait être considéré [Roblin *et al.*, 2014b];

- une concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/mL sans présence d'anticorps anti-ADA (groupe 2) prédit une rémission clinique dans 67 % des cas à 6 mois et dans 52 % des cas à 1 an, et ce, après intensification de la dose d'ADA;
- une concentration seuil d'ADA < 4,9 µg/mL avec présence d'anticorps anti-ADA (groupe 3) prédit un échec dans 88 % des cas à 6 mois et dans 100 % des cas à 1 an, et ce, malgré une intensification de la dose d'ADA. Une substitution d'anti-TNF devrait alors être envisagée.

L'étude de cohorte rétrospective multicentrique de Yanai et ses collègues [2015] a été réalisée auprès de 247 patients atteints d'une MII et traités avec un anti-TNF. Elle avait pour but d'évaluer la corrélation entre la concentration seuil d'anti-TNF, l'apparition d'anticorps contre ces médicaments et l'issue des interventions réalisées en cas de perte de réponse. Les mesures ont été effectuées par ELISA. Au total, 330 épisodes de perte de réponse ont été évalués, dont 142 uniquement pour l'ADA. La réapparition des symptômes de MII devait être accompagnée d'une activité inflammatoire documentée (protéine C, calprotectine fécale, endoscopie ou imagerie) [Yanai *et al.*, 2015].

- Concernant la valeur prédictive d'une récurrence de l'activité inflammatoire, une analyse de type ROC a permis d'établir la concentration seuil optimale d'ADA à 3 µg/ml (aire sous la courbe = 0,79; sensibilité : 73 %; spécificité : 79 %; $p < 0,01$).
- Une intensification de la dose a été effectuée dans 52 des 142 épisodes de perte de réponse à l'adalimumab (37 %). Une différence significative entre les concentrations seuils moyennes mesurées chez les patients avec réponse à l'intensification et ceux sans réponse a été calculée (0,3 µg/ml c. 3,2 µg/ml, respectivement; $p < 0,01$). Toutefois, selon les auteurs, la valeur prédictive de la réponse à l'intensification de la dose d'ADA par l'intermédiaire d'une mesure de la concentration seuil demeure modeste (AUROC, 0,67; sensibilité \approx 80 %; spécificité : < 60 %; $p < 0,01$). Un chevauchement dans la distribution des mesures de la concentration résiduelle d'ADA entre les deux groupes pourrait expliquer cette situation.
- C'est à une valeur supérieure à 4,5 µg/ml que la concentration seuil d'ADA prédit plus clairement un échec de l'intensification de la dose (spécificité : 90 %; VPP : 85 %; VPN : 39,5 %) et prédit, par le fait même, une réponse favorable à un changement d'anti-TNF (spécificité : 75 %; VPP : 88 %; VPN : 26 %) ou à un changement de classe thérapeutique (spécificité : 100 %; VPP : 100 %; VPN : 74 %).
- Concernant les concentrations d'anticorps anti-ADA mesurées juste avant l'intensification de la dose ($n = 52$), un certain chevauchement des valeurs a également été constaté selon que l'intervention se soldait par une réponse ou non. Toutefois, un titre d'anticorps anti-ADA supérieur à 4 µg/ml-éq prédit un échec thérapeutique à court terme (spécificité : 90 %; VPP: 76 %; VPN: 75 %).

L'étude prospective de Ben-Horin et ses collègues [2012] avait pour objectif de suivre la baisse des titres d'anticorps anti-IFX et d'anticorps anti-ADA après l'arrêt du traitement. Elle visait également à déterminer l'utilité clinique de mesurer les concentrations de ces anticorps avant la réintroduction d'un traitement similaire [Ben-Horin *et al.*, 2012]. L'évaluation de ces paramètres a été réalisée par ELISA chez deux cohortes distinctes. La première comportait 22 patients, dont 16 recevaient l'IFX et 6 l'ADA, alors que la deuxième comportait 27 patients

en arrêt de traitement depuis au moins 4 mois, parmi lesquels 24 patients avaient reçu l'IFX et 3 l'ADA. Les résultats sont présentés aux tableaux 3 et 4.

Tableau 3 Fréquence de détection d'anticorps anti-IFX et d'anticorps anti-ADA en fonction du temps après l'arrêt du traitement

	COHORTE 1 (N = 22)	
	IFX	ADA
PRÉSENCE D'ANTICORPS ANTI-TNF APRÈS ARRÊT DU TRAITEMENT N (%)		
À l'arrêt du traitement (temps 0)	16 (100)	6 (100)
6 mois après l'arrêt du traitement	8 (50)	4 (66,7)
12 mois après l'arrêt du traitement	3 (18,7)	4 (66,7)

Source : Ben-Horin *et al.*, 2012.

Contrairement à la baisse relativement rapide des titres d'anticorps anti-IFX chez la majorité des patients, les anticorps anti-ADA étaient toujours détectables chez 4 des 6 patients un an après l'arrêt du traitement ($p = 0,04$ pour la comparaison entre les taux de détection à 12 mois).

Tableau 4 Réponse clinique à une réintroduction du traitement anti-TNF en fonction de la présence ou non d'anticorps anti-IFX et d'anticorps anti-ADA

COHORTE 2 (N = 27)		ÉCHEC À LA RÉINTRODUCTION	RAPPORT DE COTES
Présence d'anti-IFX ou d'anti-ADA N (%)	Oui : 5 (18,5)	3 (60)	1,5 [IC95 % : 0,2-11]
	Non : 22 (81,5)	11 (50)	

Source : Ben-Horin *et al.*, 2012.

On a observé que 5 des 27 patients présentaient des concentrations détectables d'anticorps anti-IFX ou d'anticorps anti-ADA avant la réintroduction de l'anti-TNF. La présence d'anticorps anti-TNF au moment de la réintroduction du médicament n'a pas été associée à un risque significativement accru d'échec thérapeutique (RC = 1,5; IC95 % : 0,2-11; $p = 0,7$).

Au moment de la réintroduction d'un traitement anti-TNF, le risque d'échec thérapeutique est significativement plus élevé lorsque ce dernier a initialement été suspendu en raison d'une perte de réponse comparativement à d'autres raisons telles qu'une complication infectieuse, une grossesse, un retrait volontaire, etc. (RC = 6,0; IC95 % : 1,1-34; $p = 0,04$).

4.4 Validité analytique

En 2013, Wang et ses collègues ont développé et validé une méthode d'analyse de type HPLC-HMSA afin de mesurer les concentrations d'ADA et d'anticorps anti-ADA dans le sérum. Les expériences de validation ont été réalisées à partir du sérum de lapins immunisés à l'ADA. Des dilutions en série de ces échantillons de référence ont été réalisées afin de produire une courbe standard. Les résultats sont résumés au tableau 5.

Tableau 5 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA et des anticorps anti-ADA par HPLC-HMSA

ANALYTE	LOD (n = 29)	LLOQ (n = 29)	ULOQ (n = 29)	PRÉCISION ET JUSTESSE DES MESURES		CONCORDANCE (valeurs mesurées et attendues)	RÉGRESSION LINÉAIRE Pente	INTERFÉRENCE
				intraessai (n = 10)	interessai (n = 11)			
ADA (µg/ml)	0,018	0,04	1,1	CV < 19,2 % Erreur < 2,7 %	CV < 11,7 % Erreur < 21,2 %	R ² = 0,9933	0,9747	<u>OUI</u> : TNFα à 100ng/ml (16 000X la normale) <u>NON</u> : TNFα, TNFβ Ig, Facteurs rhumatoïdes, Sérum hémolysé, Azathioprine 10 µM et Méthotrexate 2 mM
Anti-ADA (U/ml)	0,026	0,063	25	CV < 2,2 % Erreur < 12,6 %	CV < 8,5 % Erreur < 17,2 %	R ² = 0,9977	0,876	

Source : Wang *et al.*, 2013.

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; anti-ADA : anticorps anti-adalimumab; CV : coefficients de variation;

Ig : immunoglobulines; LLOQ : *lower limit of quantification*; LOD : *limit of detection*; ULOQ : *upper limit of quantification*.

Les auteurs ont testé 100 échantillons de sérum provenant de sujets naïfs à l'ADA afin de déterminer les valeurs maximales pouvant être enregistrées chez un individu sain (bruit de fond). Concernant les anti-ADA en HMSA, les valeurs moyennes de l'aire sous la courbe du pic décalé, normalement associé au complexe anti-ADA/ADA-488, étaient très près de celles de la limite de détection (LOD). Après avoir extrapolé une concentration moyenne sur la courbe standard, le seuil minimal cliniquement significatif a été établi à 0,549 U/ml. Un seul échantillon témoin présentait une concentration d'anticorps anti-ADA supérieure à cette valeur, soit 0,630 U/ml. La spécificité de l'essai a donc été établie à 99 %.

Une approche semblable a été réalisée pour l'ADA/TNF-488. La concentration maximale seuil cliniquement significative a été établie à 0,676 µg/ml, ce qui représente une spécificité de 97 % pour cet essai.

En 2012, Llinares-Tello et ses collègues ont évalué la performance analytique de deux essais ELISA Promonitor^{®13} relativement au suivi thérapeutique de l'ADA et au dosage des anticorps anti-ADA chez des patients recevant le médicament. La variabilité inter et intraessai a été évaluée sur trois jours différents en réalisant l'analyse des mêmes échantillons en duplicata. La linéarité a été évaluée en effectuant des dilutions sériées d'un échantillon de référence. Les résultats sont résumés au tableau 6.

Tableau 6 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA et des anticorps anti-ADA par ELISA

ANALYTE	LOD	PRÉCISION (CV)		LINÉARITÉ (R ²)
		INTRAESSAI	INTERESSAI	
ADA	0,4 ng/ml	7,2 % à 9,5 %	11,9 % à 13,7 %	0,990 à 0,993
Anti-ADA	ND			

Source : Llinares-Tello *et al.*, 2012.

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; anti-ADA : anticorps anti-adalimumab; CV : coefficients de variation; LOD : *limit of detection*.

13. Même si ce sont les trousses Promonitor[®] qui sont visées par cette étude, des différences méthodologiques ont été notées comparativement aux formulaires transmis par le demandeur.

En 2013, Ruiz-Arguello et ses collègues ont réalisé une étude qui avait pour objectif d'analyser la corrélation entre les trousse Promonitor® et un essai réalisé au Sanquin Blood Supply diagnostic service des Pays-Bas, entre autres relativement au dosage sérique de l'ADA et des anti-ADA. Sanquin utilise un ELISA standard pour doser l'ADA et un RIA pour les anti-ADA.

Au total, 30 échantillons sériques enrichis artificiellement d'ADA et d'anti-ADA de manière à couvrir un large éventail de concentrations ont été utilisés, soit 0,001 à 5 µg/ml et 1 à 5000 AU/ml, respectivement. Le coefficient de corrélation de Pearson a été utilisé pour étudier l'association entre les deux essais et la méthode de Bland-Altman pour évaluer la différence (biais) entre les mesures obtenues. Il a été démontré que Sanquin surestime la quantité d'ADA et entraîne une erreur systématique qui augmente lorsque la concentration sérique est supérieure à 2 µg/ml. Considérant l'essai Promonitor®, cette surestimation s'est avérée significativement plus faible (biais Sanquin : - 1,140 ± 2,713 contre biais Promonitor® : - 0,159 ± 0,488). Le taux de recouvrement obtenu avec la trousse Promonitor® est plus près des valeurs réelles (122 %) comparativement à Sanquin (214 %).

Tableau 7 Données de validité analytique des trousse Promonitor®

ANALYTE	LLOQ	VALEUR SEUIL*	CORRÉLATION AVEC RIA
ADA	2,9 ng/ml	24 ng/ml	R ² = 0,986 (p < 0,0001)
Anti-ADA	3,7 AU/ml	3,5 AU/ml	R ² = 0,996 (p < 0,0001)

Source : Ruiz-Arguello *et al.*, 2013.

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; RIA : *radio immuno-assay*; LLOQ : *lower limit of detection*.

* Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

Les données de validité analytique fournies par le fabricant des trousse Promonitor®-ADL et Promonitor®- anti-ADL sont résumées aux tableaux 8 et 9

Tableau 8 Données de validité analytique relativement au dosage sérique de l'ADA par ELISA avec la trousse Promonitor®-ADL

ANALYTE	LOD	LLOQ	RECOUVREMENT	VALEUR SEUIL*	PRÉCISION (CV)		CORRÉLATION AVEC AUTRE ELISA	LINÉARITÉ
					INTRA	INTER		
ADA	0,4 ng/ml	2,9 ng/ml	94-106 %	24 ng/ml	6,1 %	5,1 %	R ² = 0,98	60 à 3,9 ng/ml

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; ELISA : *enzyme-linked immunosorbent assay*; LLOQ : *lower limit of detection*; LOD : *limit of detection*.

* Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

Tableau 9 Données de validité analytique relativement au dosage sérique des anticorps anti-ADA par ELISA avec la trousse Promonitor®- anti-ADL

ANALYTE	SENSIBILITÉ ANALYTIQUE*	LLOQ	VALEUR SEUIL [†]	PRÉCISION (CV)		CORRÉLATION AVEC RIA	LINÉARITÉ
				INTRA	INTER		
Anti-ADA	4,4 AU/ml	3,7 AU/ml	3,5 AU/ml	6,6 %	6,6 %	R ² = 0,992	196 à 8,5 AU/ml

Source : feuillet de la trousse (fourni par le demandeur).

Sigles et acronymes : ADA : adalimumab; CV : coefficients de variation; LLOQ : lower limit of detection; RIA : radio immuno-assay.

* La concentration la plus faible à laquelle le dosage des anti-ADA produit de façon constante un résultat positif ou égal à la valeur seuil.

† Valeur à laquelle un échantillon est considéré comme positif.

4.5 Données fournies par le demandeur

Les données relatives à cette section sont présentées à l'annexe B.

5 IMPACTS BUDGÉTAIRES

L'analyse d'impact budgétaire présentée prend en considération les coûts directs et indirects liés à l'introduction des présentes analyses au *Répertoire*.

L'évaluation des coûts directs est présentée au tableau 6 et repose principalement sur les éléments suivants :

- les principaux comparateurs utilisés sont les analyses réalisées hors Québec par Prometheus Lab, par l'Université de Leuven et par Gamma Dynacare Medical Laboratories;
- au cours de la dernière année, 37 analyses ont été effectuées hors Québec;
- le coût moyen pondéré de l'ensemble de ces analyses est de 731,49 \$;
- selon les demandeurs, 280 et 240 analyses par année seraient réalisées suivant l'introduction du test par HMSA et par ELISA, respectivement, et ce, pour les trois prochaines années;
- les valeurs pondérées proposées par le demandeur pour les tests par HMSA et par ELISA sont de 77,14 et de 106, respectivement;
- les 280 et 240 analyses estimées représentent 100 % des analyses prévues pour le Québec.

Tableau 10 Coûts directs liés à l'introduction des nouvelles analyses au *Répertoire*

	AN 1	AN 2	AN 3	TOTAL
Coûts actuels (envois hors Québec)	27 065 \$	27 065 \$	27 065 \$	81 195 \$
Coûts si introduction des nouvelles interventions	HMSA			
	21 599 \$	21 599 \$	21 599 \$	64 797 \$
	ELISA			
	25 440 \$	25 440 \$	25 440 \$	76 320 \$
Différentiel de coûts	HMSA			
	- 5 466 \$	- 5 466 \$	- 5 466 \$	- 16 398 \$
	ELISA			
	- 1 625 \$	- 1 625 \$	- 1 625 \$	- 4 875 \$

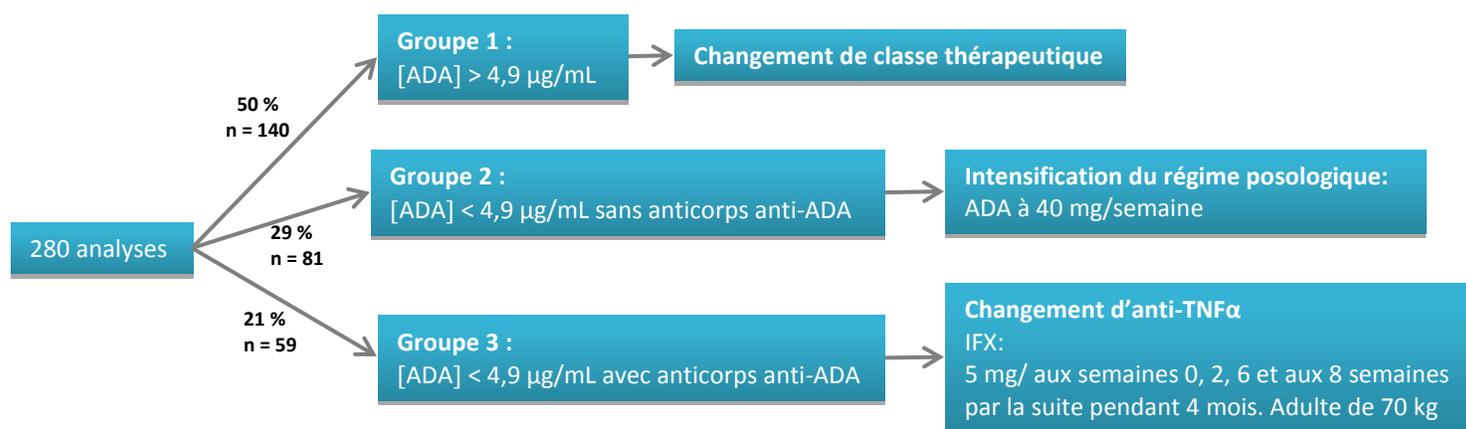
En tenant compte de l'ensemble de ces considérations, les économies directement liées à l'introduction de l'analyse par HMSA au *Répertoire* sont estimées à 16 398 \$, et ce, pour les trois premières années, alors que celles liées à l'introduction de l'analyse par ELISA sont estimées à 4 875 \$.

L'évaluation des coûts indirects est basée sur l'algorithme de traitement présenté à l'annexe C et elle repose principalement sur les éléments suivants.

Les interventions réalisées en fonction du résultat du test suivent l'algorithme présenté ci-dessous, adapté de Roblin et ses collègues [2014b], ainsi que sur celui présenté à l'annexe C.

Chaque analyse correspond à un patient.

Figure 2 Algorithme de traitement adapté de Roblin et ses collègues [2014b]



En effectuant le suivi thérapeutique de l'adalimumab, une réduction des coûts en adalimumab de plus de 2,4 M\$ pour 280 analyses réalisées par HMSA par année est anticipée, et ce, pour les trois prochaines années. Pour les analyses effectuées par ELISA, cette réduction de coût est évaluée à 2,1 M\$. En effet, en évitant d'utiliser cet anti-TNF chez les patients qui ne répondront pas au traitement, une économie de 8 700 \$ par analyse, soit par HMSA ou ELISA, pourrait être réalisée. Toutefois, en considérant que ces patients recevront une autre thérapie telle que l'infliximab ou le vedolizumab, les économies indirectes anticipées seront moindres et elles sont plutôt estimées à 716 000 \$ par année pour les analyses par HMSA et à 614 000 \$ pour les analyses par ELISA, soit environ 2 500 \$ par analyse.

6 ENJEUX ORGANISATIONNELS, ÉTHIQUES, SOCIAUX ET JURIDIQUES

Ces enjeux n'ont pas été analysés.

7 POSITIONS OU ORIENTATIONS D'AUTRES ORGANISATIONS

Blue Cross Blue Shield of Kansas (2015)

Politique de couverture (*Measurements of serum antibodies to infliximab and adalimumab*¹⁴) : la mesure des concentrations d'anticorps anti-ADA, soit seule ou sous forme d'analyse combinée avec les concentrations d'ADA chez un patient recevant un traitement anti-TNF, est considérée comme une mesure expérimentale ou d'investigation.

American College of Gastroenterology (ACG)

Management of Crohn's Disease in Adults et Ulcerative Colitis in Adults [Kornbluth et Sachar, 2010; Lichtenstein *et al.*, 2009] n'aborder pas la question. Toutefois, les documents sont actuellement en cours de révision¹⁵.

National Institute for Health and Care Excellence (NICE)

La question du dosage thérapeutique des anti-TNF fait présentement l'objet d'une évaluation par le NICE. Le document d'évaluation suivant est terminé : *Crohn's disease - Tests for therapeutic monitoring of TNF inhibitors (LISA-TRACKER ELISA kits, TNFa-Blocker ELISA kits, and Promonitor ELISA kits)*. La publication des recommandations par le Diagnostics Advisory Committee est attendue pour le 26 mai 2016¹⁶.

8 SYNTHÈSE DE L'ÉVALUATION

8.1 Résumé du contexte

Les analyses proposées permettent d'optimiser le traitement à l'adalimumab (ADA).

8.2 Résumé des données probantes

En cas d'échec du traitement à l'ADA, la concentration au seuil et la présence d'anticorps anti-ADA permettent d'orienter les décisions thérapeutiques subséquentes. À cet égard :

- Une concentration seuil faible en l'absence d'anticorps anti-ADA prédit la réussite d'une intensification de la dose dans la majorité des cas.
- Une concentration seuil faible en présence d'anticorps anti-ADA prédit l'échec d'une intensification de la dose dans la grande majorité des cas. Une substitution d'anti-TNF devrait alors être envisagée.
- Une concentration seuil élevée en présence ou en l'absence d'anticorps anti-ADA prédit un échec à l'intensification de la dose ou à la substitution d'anti-TNF dans 90 % des cas. Un changement de classe thérapeutique devrait être considéré.
- La quasi-totalité des preuves cliniques ont été développées en utilisant l'ELISA comme outil d'analyse.

La validité analytique des techniques HPLC-HMSA et ELISA est démontrée. L'information disponible indique une bonne précision des deux techniques d'analyse.

14. Blue Cross Blue Shield of Kansas (BCBSKS). *Medical Policies* [site Web]. Disponible à : <http://www.bcbsks.com/CustomService/Providers/MedicalPolicies/policies.shtml> (consulté le 17 juillet 2015).

15. American College of Gastroenterology (ACG). *Clinical Guidelines (Sortable List)* [site Web]. Disponible à : <http://gi.org/clinical-guidelines/clinical-guidelines-sortable-list/> (consulté le 17 juillet 2015).

16. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). *Crohn's disease - Tests for therapeutic monitoring of TNF inhibitors (LISA-TRACKER ELISA kits, TNFa-Blocker ELISA kits, and Promonitor ELISA kits)*. Disponible à : <https://www.nice.org.uk/guidance/indevelopment/gid-dt24> (consulté le 13 novembre 2015).

8.3 Impacts budgétaires

Des économies directes estimées entre 4 875 \$ et 16 398 \$ sont à prévoir pour les trois premières années suivant l'introduction de cette analyse au *Répertoire*. À celles-ci s'ajoutent des économies indirectes, soit celles liées au traitement, estimées à 2 500 \$ par test.

8.4 Positions d'autres organisations

Le dosage thérapeutique de l'ADA fait présentement l'objet d'une évaluation approfondie par le NICE. Les constats qui en seront dégagés sont attendus pour mai 2016.

9 RECOMMANDATIONS DE L'INESSS

Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab avec chromatographie liquide à haute performance – Essais HMSA et par ELISA

Les recommandations de l'INESSS

HPLC-HMSA

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

ELISA

- Introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Refus d'introduction de l'analyse dans le *Répertoire*
- Maintien de l'analyse dans le *Répertoire*
- Retrait de l'analyse du *Répertoire*

Précisions additionnelles

- ✓ L'utilité clinique est reconnue par le comité. Toutefois, les données probantes ont été jugées insuffisantes pour recommander une utilisation à large échelle.
- ✓ Une évaluation du National Institute for Health and Care Excellence (NICE) est présentement en cours sur le sujet. Les résultats devraient être disponibles prochainement.
- ✓ Considérant que les données seront disponibles prochainement et afin de ne pas pénaliser les patients qui ont besoin de ce test, le comité recommande au MSSS de maintenir la possibilité que ce test soit réalisé hors Québec.

ANNEXE A

Indications reconnues de l'adalimumab par Santé Canada et indications de paiement au Québec

L'adalimumab est un médicament d'exception au Québec, spécifiquement indiqué pour les maladies suivantes :

INDICATIONS RECONNUES PAR SANTÉ CANADA	INDICATIONS DE PAIEMENT RECONNUES AU QUÉBEC
Polyarthrite rhumatoïde	Polyarthrite rhumatoïde modérée ou grave
Rhumatisme psoriasique	Arthrite psoriasique modérée ou grave de forme rhumatoïde ou autre
Spondylarthrite ankylosante	Spondylite ankylosante modérée ou grave
Psoriasis	Psoriasis en plaques chronique grave
Maladie de Crohn	Maladie de Crohn modérée ou grave
Arthrite juvénile idiopathique poly-articulaire	Autre indication thérapeutique (mesure du patient d'exception)
Colite ulcéreuse	

ANNEXE B

Données de validation locale

Janvier 2015

Dr Pierre-Olivier Héту, biochimiste clinique, Ph.D., CSPQ, FCACB
Dr Jonathan Michaud-Levesque, biochimiste clinique en formation, Ph.D.

Méthode HPLC-fluorescence par HMSA au CHUM

**Infliximab / anti-Infliximab
Adalimumab / anti-Adalimumab**

1. But

Le but de cette procédure est de décrire le dosage de l'Infliximab et de l'Adalimumab ainsi que des auto-anticorps dirigés contre l'Infliximab et l'Adalimumab par immuno-chromatographie (Méthode HMSA - *Homogeneous mobility shift assay*) en utilisant la chromatographie liquide à haute pression par filtration sur gel couplée à un détecteur fluorimétrique.

2. Abréviation

IFX : Infliximab
ADA : Adalimumab

ATI : Anti-IFX (Anticorps anti-infliximab)
ATA: Anti-ADA (Anticorps anti-adalimumab)

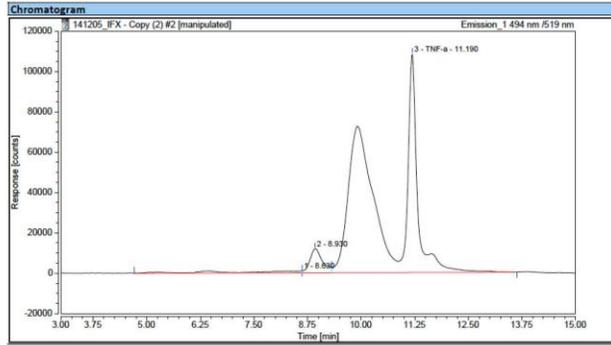
3. Principe

- 3.1. Pour quantifier l'IFX ou l'ADA, on incube le spécimen du patient avec du TNF- α fluorescent et on calcule la proportion du TNF- α déplacé par rapport au TNF- α total.
- 3.2. Pour quantifier les anti-IFX ou les anti-ADA, on incube les spécimens des patients avec de l'IFX fluorescent ou de l'ADA fluorescent, respectivement, et on calcule la proportion déplacée par rapport au total.

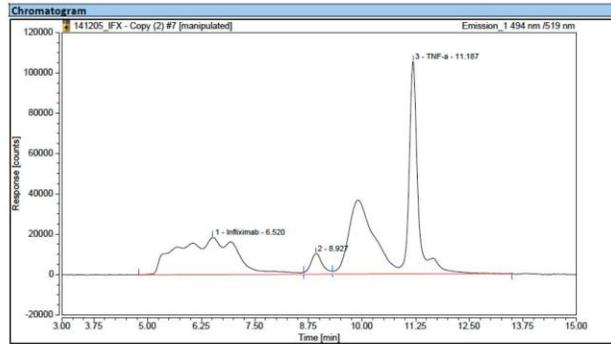
4. Résultats de validation

4.1. Méthode HMSA pour IFX et ATI

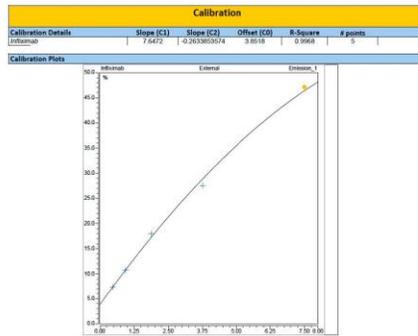
4.1.1. TNF-a marqué en absence d'IFX (pic vers 10 min)



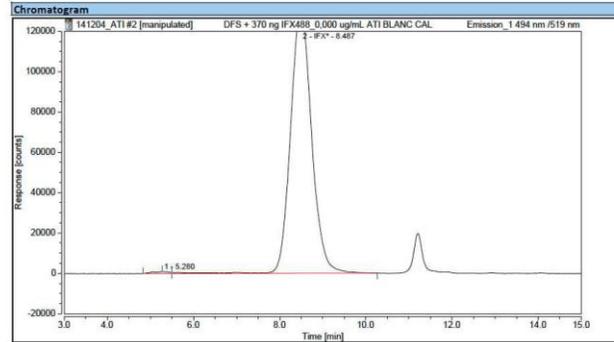
4.1.2. TNF-a marqué en présence d'IFX (baisse du pic à 10 min et apparition de complexes de plus haut poids moléculaire vers 5-7 min)



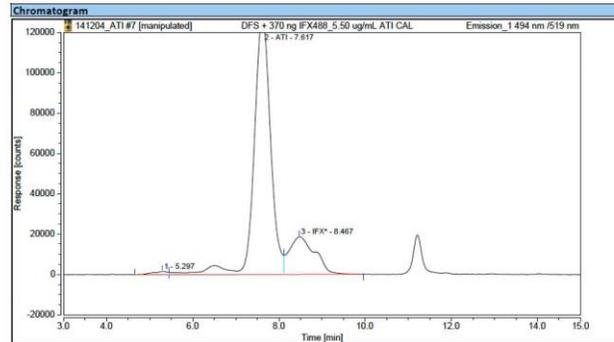
4.1.3. Courbe de calibration type pour IFX



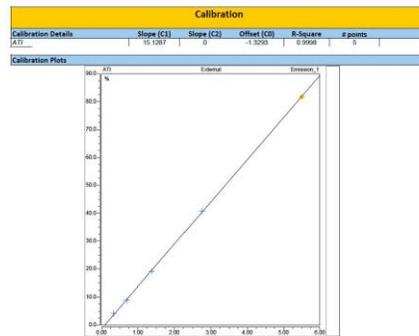
4.1.4. IFX marqué en absence d'ATI (pic vers 8,5 min)



4.1.5. IFX marqué en présence d'ATI (diminution du pic vers 8,5 min et apparition d'un complexe de plus haut poids moléculaire vers 5-7 min)



4.1.6. Courbe de calibration type pour ATI



4.1.7. Exactitude

Exactitude moyenne de $101,7 \pm 3,9\%$ à 2 ug/mL et $104,2 \pm 6,9\%$ à 5 ug/mL (n=5) pour l'IFX et $91,0 \pm 3,3\%$ à 1 ug/mL et $94,1 \pm 2,4\%$ à 4 ug/mL (n=5) pour les ATI

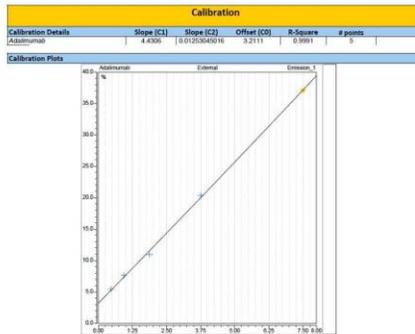
4.1.8. Imprécision

Imprécision intra-essai (n=5) ou inter-essai (n=4) < 7% à tous les niveaux testés pour l'IFX et les ATI (seulement intra-essai testé pour le moment).

4.2. Méthode HMSA pour ADA et ATA

Méthode mise au point mais en attente d'approbation d'introduction au répertoire pour validation finale. Données préliminaires suggèrent que les performances analytiques de la méthode pour ADA et ATA sont similaires à celles pour IFX et ATI (même principe analytique et mêmes conditions de préparation des échantillons).

4.2.1. Courbe de calibration type pour IFX

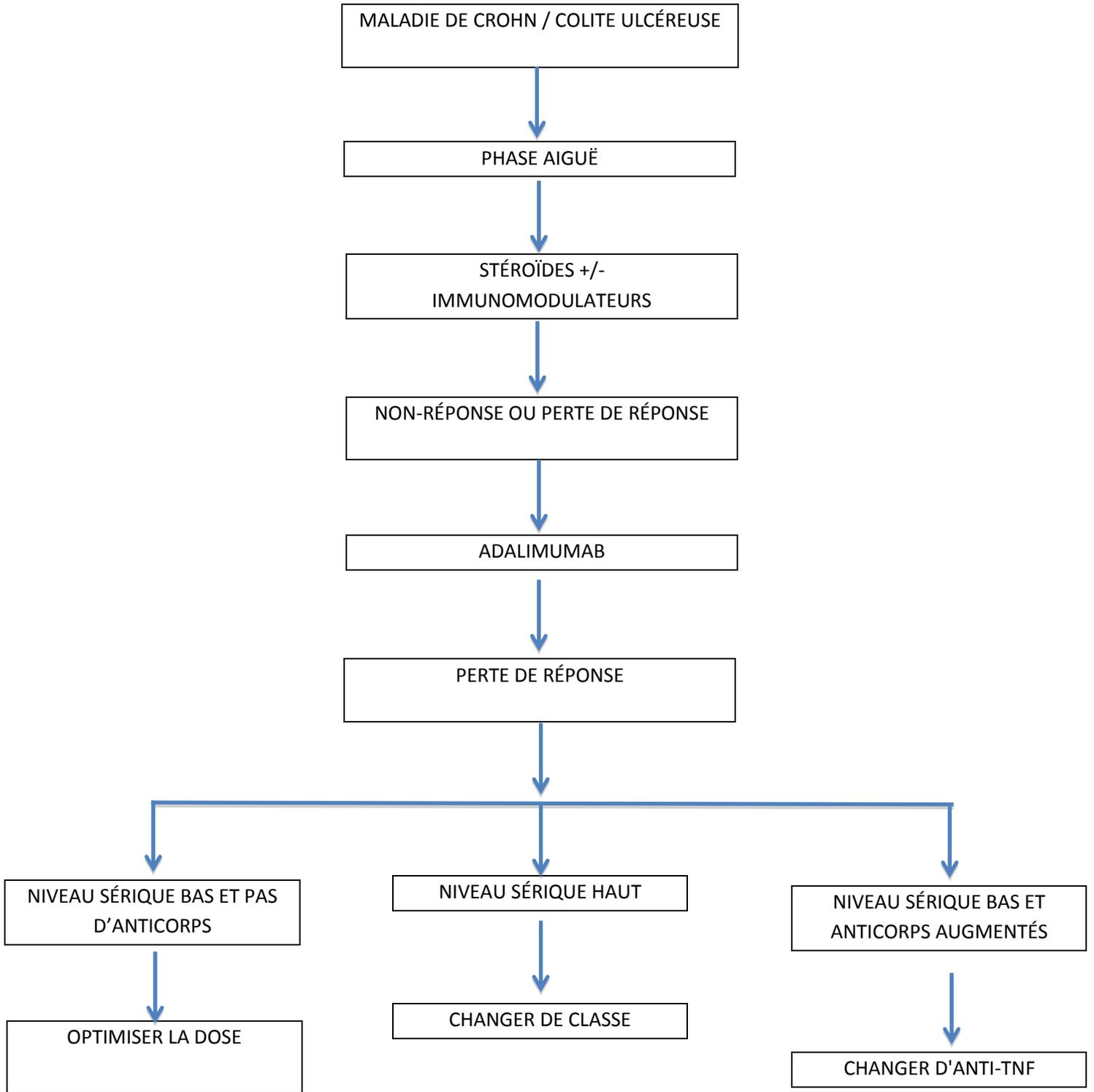


Dr Pierre-Olivier Héту, biochimiste clinique, Ph.D., CSPQ, FCACB
Responsable du laboratoire de pharmacologie-toxicologie du CHUM

2015-01-28

ANNEXE C

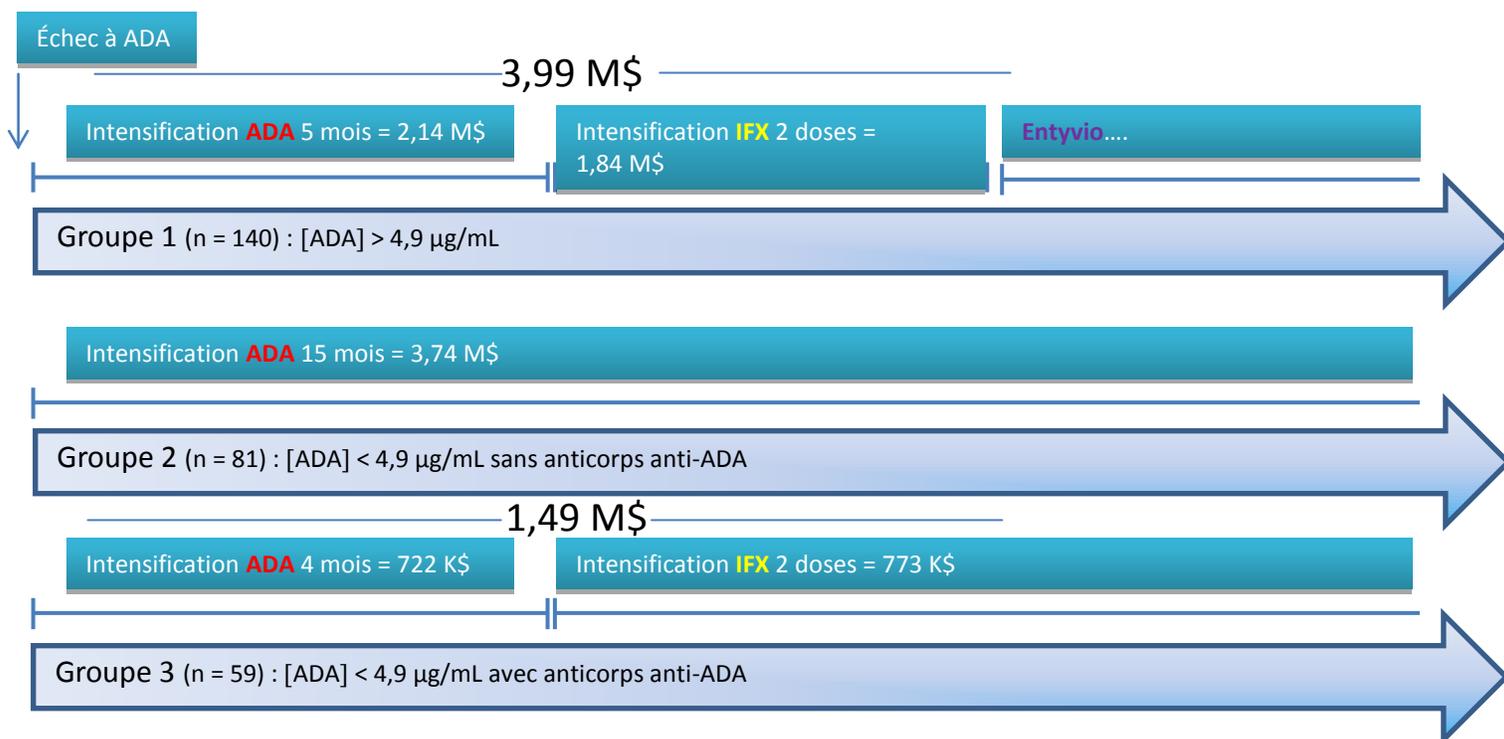
Algorithme de traitement optimal (HMR)



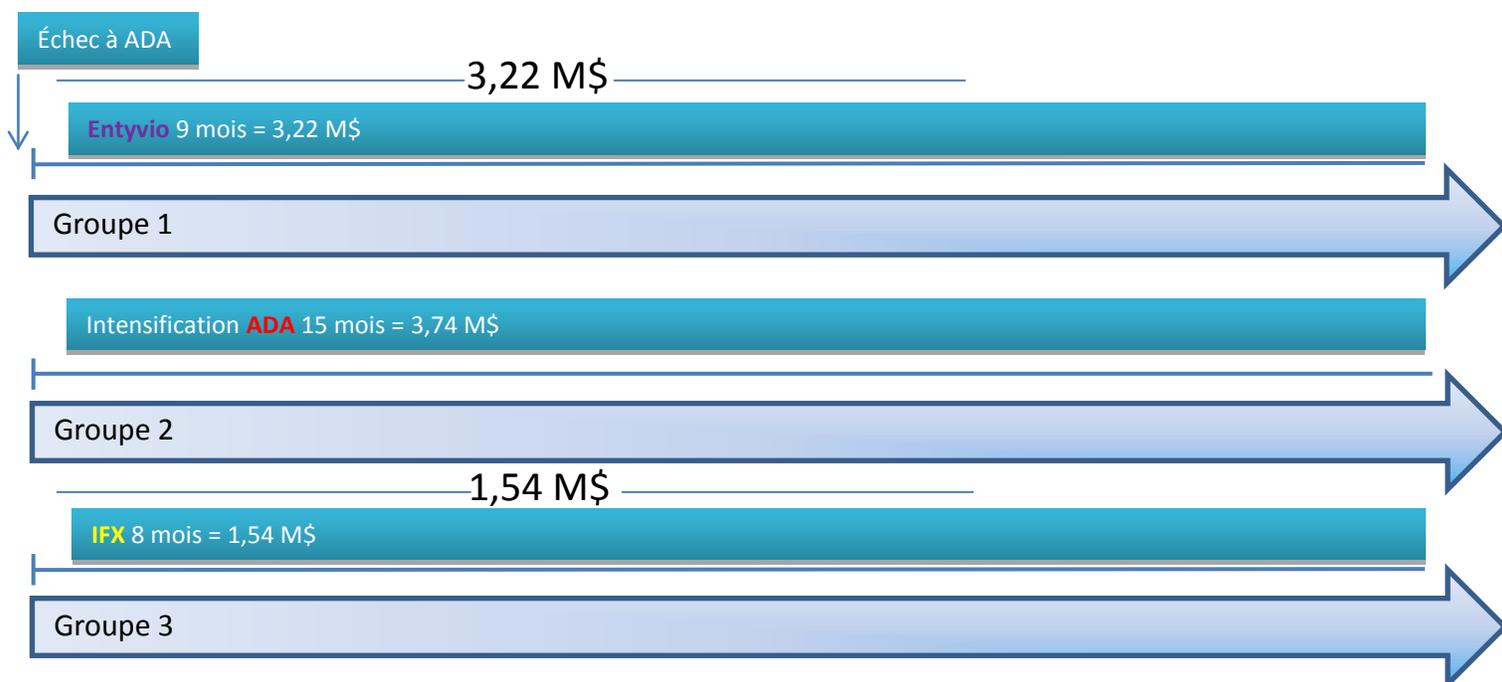
ANNEXE D

Algorithme de traitement

Sans l'introduction de l'analyse au Répertoire



Avec l'introduction de l'analyse au Répertoire



RÉFÉRENCES

- Ben-Horin S, Mazor Y, Yanai H, Ron Y, Kopylov U, Yavzori M, et al. The decline of anti-drug antibody titres after discontinuation of anti-TNFs: Implications for predicting re-induction outcome in IBD. *Aliment Pharmacol Ther* 2012;35(6):714-22.
- Fedorak RN, Wong K, Bridges R. Canadian Digestive Health Foundation Public Impact Series. Inflammatory bowel disease in Canada: Incidence, prevalence, and direct and indirect economic impact. *Can J Gastroenterol* 2010;24(11):651-5.
- Kornbluth A et Sachar DB. Ulcerative colitis practice guidelines in adults: American College Of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2010;105(3):501-23.
- Lichtenstein GR, Hanauer SB, Sandborn WJ. Management of Crohn's disease in adults. *Am J Gastroenterol* 2009;104(2):465-83.
- Llinares-Tello F, de Salazar JR, Gallego JM, Soler GS, Ramirez CS, Heredia ES, Garcia JM. Analytical and clinical evaluation of a new immunoassay for therapeutic drug monitoring of infliximab and adalimumab. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(10):1845-7.
- Lowe AM, Roy PO, B.-Poulin M, Michel P, Bitton A, St-Onge L, Brassard P. Epidemiology of Crohn's disease in Québec, Canada. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15(3):429-35.
- Porter RS, réd. Le manuel Merck de diagnostic et de thérapeutique. 5^e éd. française. Paris, France : Éditions de médecine; 2014.
- Roblin X, Marotte H, Rinaudo M, Del Tedesco E, Moreau A, Phelip JM, et al. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014a;12(1):80-84.e2.
- Roblin X, Rinaudo M, Del Tedesco E, Phelip JM, Genin C, Peyrin-Biroulet L, Paul S. Development of an algorithm incorporating pharmacokinetics of adalimumab in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 2014b;109(8):1250-6.
- Ruiz-Arguello B, del Agua AR, Torres N, Monasterio A, Martinez A, Nagore D. Comparison study of two commercially available methods for the determination of infliximab, adalimumab, etanercept and anti-drug antibody levels. *Clin Chem Lab Med* 2013;51(12):e287-9.
- Wang SL, Hauenstein S, Ohrmund L, Shringarpure R, Salbato J, Reddy R, et al. Monitoring of adalimumab and antibodies-to-adalimumab levels in patient serum by the homogeneous mobility shift assay. *J Pharm Biomed Anal* 2013;78-79:39-44.
- Yanai H, Lichtenstein L, Assa A, Mazor Y, Weiss B, Levine A, et al. Levels of drug and antidrug antibodies are associated with outcome of interventions after loss of response to infliximab or adalimumab. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015;13(3):522-530.e2.