

## Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab par ELISA

Évaluation pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*

Une production de l'Institut national  
d'excellence en santé  
et en services sociaux (INESSS)

Direction des services de santé et de  
l'évaluation des technologies

Le contenu de cette publication a été rédigé et édité par l'INESSS.

### **Membres de l'équipe projet**

#### **Auteure principale**

Emmanuelle Tchekanda, Ph. D.

#### **Soutien administratif**

Annabelle Suire

#### **Coordonnateur scientifique**

Éric Potvin, Ph. D.

#### **Directrice**

Michèle de Guise, M.D., FRCPC

---

### **Équipe de l'édition**

Patricia Labelle

Denis Santerre

Hélène St-Hilaire

#### **Sous la coordination de**

Renée Latulippe, M.A.

#### **Avec la collaboration de**

Josée De Angelis, révision linguistique

---

### **Dépôt légal**

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2020

Bibliothèque et Archives Canada, 2020

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF)    ISBN 978-2-550-86339-7 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2020

La reproduction totale ou partielle de ce document est autorisée à condition que la source soit mentionnée.

Pour citer ce document : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab par ELISA Évaluation pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*. Rapport rédigé par E. Tchekanda. Québec, Qc : INESSS; 2020. 11 p.

L'Institut remercie les membres de son personnel qui ont contribué à l'élaboration du présent document.

# DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR ELISA (RÉFÉRENCE – 2015.04.001V)

Avis – validité analytique

## 1. INFORMATION GÉNÉRALE

### 1.1. Demandeur : Hôpital Maisonneuve-Rosemont (HMR)

#### **Mise en garde**

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

#### **Conflits d'intérêts**

Tous les membres du comité ont participé aux délibérations et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

## 2. INTRODUCTION

L'avis se rapportant à la détection de l'adalimumab (ADA) et des anticorps anti-adalimumab (anti-ADA) par ELISA a été publié le 2 octobre 2017, après transmission au ministre de la Santé et des Services sociaux (MSSS) [INESSS, 2017]. Cet avis avait pour objectif de réévaluer l'ajout au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, ci-après nommé *Répertoire*, d'une analyse permettant de faire le suivi thérapeutique des patients traités avec ce médicament. La détection de l'ADA et des anticorps anti-ADA par ELISA est effectuée à l'aide de deux trousse commerciales homologuées par Santé Canada. L'adalimumab (Humira<sup>MC</sup>) est inscrit sur la Liste des médicaments de la Régie de l'assurance maladie du Québec (RAMQ) [2019] pour le traitement de la polyarthrite rhumatoïde, l'arthrite psoriasique, la spondylite ankylosante, la maladie de Crohn, le psoriasis en plaques chronique et la colite ulcéreuse.

L'avis de réévaluation de cette analyse a été soumis au comité scientifique des analyses de biologie médicale de l'INESSS qui a émis la recommandation d'introduire l'analyse au *Répertoire* accompagnée des précisions suivantes :

- L'analyse devrait être utilisée pour les patients atteints d'une maladie inflammatoire de l'intestin traitée avec l'adalimumab, qui ne répondent pas au traitement ou qui ont cessé d'y répondre.
- Les données locales de vérification de la trousse sont absentes. Le laboratoire demandeur doit fournir ces informations préalablement à sa désignation par le MSSS.
- La mise en place d'un système externe de contrôle de la qualité est également nécessaire.

Le présent avis est produit dans le contexte d'une évaluation des données de vérification des trousse utilisées pour effectuer l'analyse.

### 3. RÉSUMÉ DE L'ÉVALUATION PRÉCÉDENTE

Un survol de l'évaluation menée en phase I par l'INESSS est présenté dans le tableau 1.

**Tableau 1 Résumé exécutif de l'évaluation de l'utilité clinique en phase I**

	Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab par ELISA
<b>Demandeur</b>	CIUSSS de l'Est-de-l'Île-de-Montréal (HMR)
<b>Objectif de l'analyse</b>	Effectuer le suivi thérapeutique des patients traités avec l'adalimumab au moyen de deux essais de type ELISA avec résultat quantitatif pour l'adalimumab (ADA) et résultat semi-quantitatif pour la détection des anticorps anti-adalimumab (anti-ADA).
<b>Utilité clinique</b>	Lors de la réévaluation, l'INESSS a retenu les résultats de plusieurs études qui ont démontré que : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les niveaux sériques résiduels d'ADA &gt;7,5 µg/ml sont associés à la guérison de la muqueuse intestinale à long terme dans 50 % des cas avec MII; cette proportion augmente à 90 % si les niveaux sont supérieurs à 12 µg/ml;</li> <li>• Les patients avec la maladie de Crohn qui atteignent la guérison de la muqueuse intestinale ont des niveaux résiduels moyens d'ADA plus élevés que ceux qui ne l'atteignent pas;</li> <li>• Un niveau sérique seuil d'ADA de 9,4 µg/ml mesuré après 4 semaines de traitement à l'ADA (anti-ADA non détectés) prédit la guérison de la muqueuse intestinale à court terme chez les patients atteints de colite ulcéreuse.</li> </ul>
<b>Nombre d'analyses prévues</b>	Le demandeur mentionne que pour l'ensemble du Québec en 2016, ils ont effectué 286 analyses ADA et 61 analyses d'anti-ADA libres. La proportion des analyses effectuées pour les patients de l'HMR était de 33 %. Selon le demandeur, cette volumétrie pourrait être multipliée au minimum par 3 pour l'an 1.
<b>Impact budgétaire</b>	L'ajout des analyses permettant de doser les concentrations sériques de l'ADA et des anti-ADA par ELISA pourrait générer une réduction de coûts de près de 300 000 \$ pour le total des trois premières années. Par ailleurs, en considérant les algorithmes de prise en charge, il est anticipé qu'une réduction des coûts de traitement de l'ordre de 2 500 \$ par test pourrait être réalisée suivant l'introduction de cette analyse au <i>Répertoire</i> .
<b>Positions et orientations d'organismes d'intérêt et enjeux</b>	Selon le NICE [2016], l'utilisation des trousse commerciales pour la détection de l'ADA et des anti-ADA par ELISA requièrent des ressources compétentes aptes à interpréter les résultats obtenus en collaborant avec le médecin traitant. Toutefois il souligne la nécessité d'effectuer davantage de recherche lorsqu'il s'agit d'utiliser ces trousse pour le suivi thérapeutique des patients atteints de la maladie de Crohn et qui répondent aux anti-TNFα.

## 4. ANALYSE ÉVALUÉE

### 4.1. Description de la méthode

L'adalimumab (Humira<sup>MC</sup>) est un anticorps monoclonal humain dirigé contre le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- $\alpha$ ), une molécule pro-inflammatoire. Lorsqu'il est conjugué à l'ADA, le TNF- $\alpha$  ne peut plus exercer son activité pro-inflammatoire. Toutefois, il est possible qu'une personne traitée avec ce type de médicament biologique développe une réponse immunitaire en cours de traitement, et ce, par la production d'anticorps anti-ADA.

La mesure quantitative du niveau sérique d'ADA présent dans l'échantillon est réalisée avec la trousse IDKmonitor<sup>MC</sup> Adalimumab Drug Level, (Immundiagnostik AG). 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 monoclonal spécifique anti-ADA préalablement fixé sur un support solide (micropuits). Les substances non liées sont ensuite enlevées par lavage. L'étape suivante d'incubation implique l'ajout d'un deuxième anticorps couplé à la peroxydase. Le tétraméthylbenzidine (TMB) est utilisé comme substrat de la peroxydase. Finalement, une solution acide d'arrêt est ajoutée pour terminer la réaction enzymatique. La couleur change de bleu à jaune. L'intensité de la couleur jaune est directement proportionnelle à la concentration d'ADA libre sérique. Une courbe dose-réponse des unités d'absorbance par rapport à la concentration est générée, en utilisant des valeurs obtenues d'échantillons standards. La concentration d'ADA libre de l'échantillon à analyser est déterminée directement de cette courbe.

La mesure semi-quantitative des anticorps anti-ADA est réalisée avec la trousse ELISA Promonitor<sup>MC</sup>-Anti-ADL (Progenika Biopharma S.A.). La procédure qui permet de quantifier les taux sériques d'anti-ADA libres se déroule comme suit : l'ADA est préenduit sur la plaque et sert à fixer les anticorps anti-ADA libres sériques. L'ADA marqué à la peroxydase de raifort (HRP : de l'anglais *horseradish peroxidase*), est utilisé pour se lier aux anticorps restés fixés aux puits. Un substrat chromogène est utilisé pour la quantification. L'analyse des résultats obtenus est faite grâce à une plate-forme analytique robotisée (DSX, Dynex Technologies).

### 4.2. Homologation

La mesure quantitative des niveaux sériques d'ADA et d'anti-ADA présents dans l'échantillon sera réalisée avec les trousse IDKmonitor<sup>MC</sup> Adalimumab Drug Level, (Immundiagnostik AG) et Promonitor<sup>MC</sup>-Anti-ADL (Progenika Biopharma S.A.). Les deux trousse sont homologuées par Santé Canada :

- IDKmonitor<sup>MC</sup> : numéro d'homologation 94889;
- Promonitor<sup>MC</sup>-Anti-ADL : numéro de licence Santé Canada 94465.

### 4.3. Valeurs pondérées :

Adalimumab : 53,88 et anticorps anti-adalimumab libres : 58,14.

## 5. DONNÉES DE VALIDITÉ ANALYTIQUE

### 5.1. Données fournies par le demandeur

#### Notes du demandeur

Le protocole de vérification a été élaboré en tenant compte du fait que les réactifs sont homologués par Santé Canada, donc d'une méthode normalisée utilisée strictement en suivant les recommandations des compagnies. Selon le demandeur, les méthodes ELISA sont éprouvées dans leur laboratoire et les coûts prohibitifs des réactifs empêchent une vérification plus exhaustive. Néanmoins, les principales caractéristiques de performance, telles que l'exactitude, la précision, la linéarité et l'intervalle de mesure, ont été vérifiées en excédant les caractéristiques de performance rapportées par le fournisseur.

### 5.2. Vérification des caractéristiques de performance de la détection de l'adalimumab

#### Méthodologie et résultats

- Exactitude (ADA)

L'exactitude de la méthode a été évaluée par une comparaison de méthode employée pour l'utilisation de la trousse Promonitor<sup>MC</sup> anti-ADL de Progenika Biopharma S.A. automatisée sur une plate-forme analytique robotisée (DSX, Dynex Technologies; n=26). Le biais moyen en valeur absolue est de -0,8355 µg/ml. Les résultats générés par le laboratoire demandeur en utilisant un système de détection automatisé sont représentés dans la figure 1.

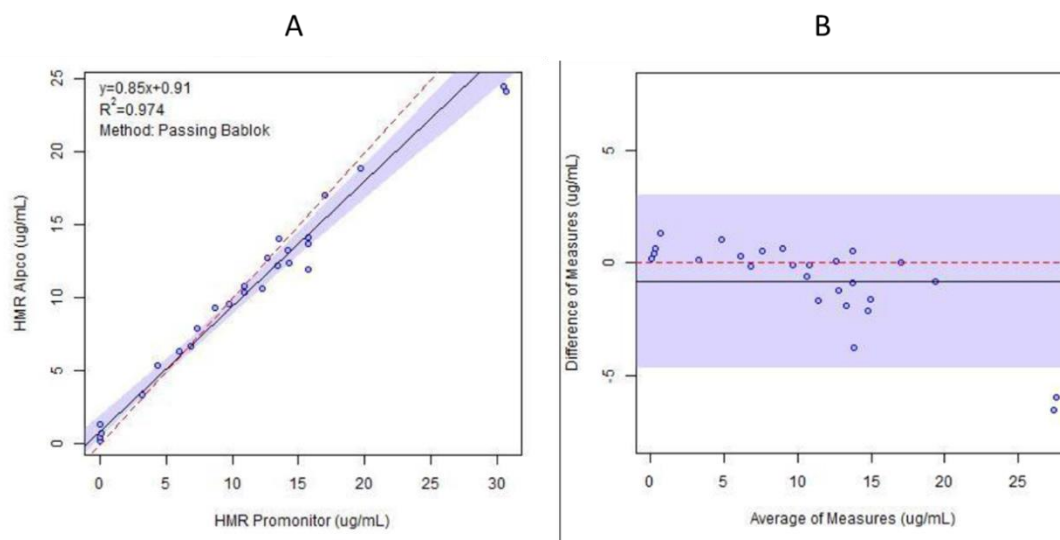
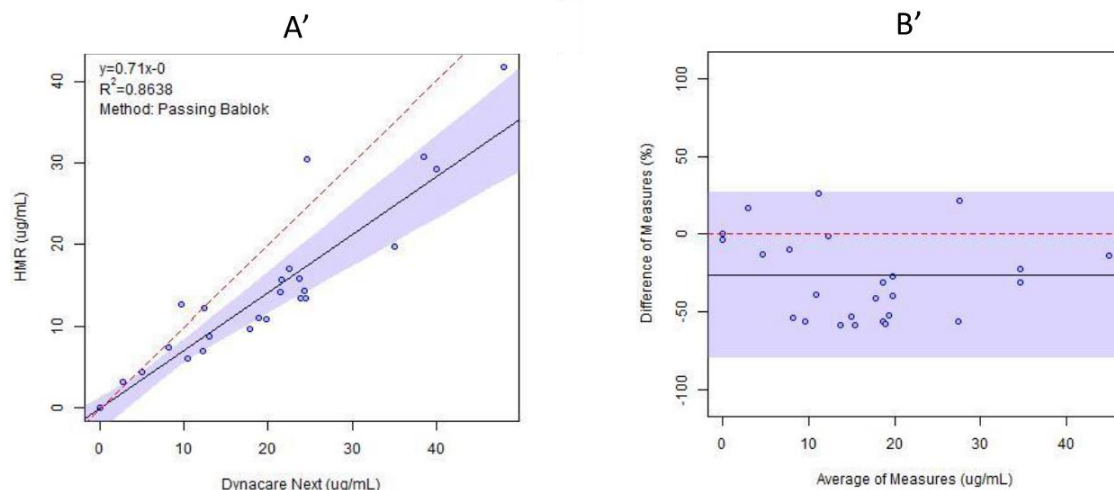


Figure 1 Évaluation de l'exactitude dans la détection de l'adalimumab. Régression linéaire adalimumab (A). Différences des mesures (B).

L'exactitude de la méthode a été évaluée par une comparaison de méthode employée pour l'utilisation de la trousse Promonitor<sup>MC</sup> ADL de Progenika Biopharma S.A. (**méthode manuelle**) utilisée par le laboratoire Dynacare Next (n=27). Le biais moyen observé est de -26,44 %. Les résultats ainsi obtenus sont présentés dans la figure 2.



**Figure 2** Évaluation de l'exactitude dans la détection de l'adalimumab. Régression linéaire adalimumab (A'). Différences des mesures (B').

L'exactitude de la méthode a été évaluée par un programme de contrôle externe de la qualité consistant en un échange inter-laboratoires avec le laboratoire Dynacare Next (tableau 2). Les résultats sont comparables malgré l'utilisation d'une méthode différente par les laboratoires participants (Promonitor<sup>MC</sup> anti-ADL, technique manuelle) et le biais varie de 5 à 30 %.

**Tableau 2 :** Comparaison inter-laboratoires des détections d'adalimumab et anti-adalimumab

	ÉCHANTILLONS	Dynacare Next	HMR
ADA (µg/ml)	205876	5,818	6,084
	205858	> 48,0	41,3850
	ADA1	11,300	11,978
	ADA2	0,917	1,334
ANTI-ADA (AU/ml)	204362	417,547	330,808
	202182	173,931	170,115
	AADA1	3,850	7,628
	AADA2	< 3,125	< 3,125

Abréviations : ADA : Adalimumab; AU : average units; HMR : Laboratoire de l'Hôpital Maisonneuve-Rosemont

• Précision (ADA)

La précision inter-essais a été évaluée par un programme de contrôle interne de la qualité pour 2 concentrations et 3 lots différents (tableau 3). Selon le demandeur, la précision inter-essais excède celle rapportée par le fournisseur.



**Tableau 3 Précision inter-essais des mesures d'ADA en utilisant des concentrations et des lots différents**

LOT	Concentration 1; CV	Concentration 2; CV
161229 (n=5)	6,2 ng/ml; 10,07 %	54 ng/ml; 10,56 %
180116 (n=8)	6,3 ng/ml; 7,65 %	50 ng/ml; 4,94 %
180308 (n=6)	6,2 ng/ml; 2,36 %	52 ng/ml; 4,17 %

Abréviation : CV : coefficient de variation

- Linéarité et intervalle de mesure (ADA)

La linéarité et l'intervalle de mesure ont été évalués en effectuant l'analyse des échantillons d'étalonnage (duplicata, 3 lots différents). La courbe d'étalonnage est de type sigmoïde log/lin et la méthode est linéaire jusqu'à 225 ng/ml telles que rapportées par le fournisseur (tableau 4).

**Tableau 4 Linéarité et intervalle de mesure issus de l'analyse de trois lots distincts**

LOT	CONCENTRATION ATTENDUE (ng/ml)	CONCENTRATION CALCULÉE (ng/ml)	CV (%)	r <sup>2</sup>
161031	0,01	0,051	5,993	0,9699
	4,150	4,348	0,065	0,9699
	8,300	8,506	0,545	0,9699
	25,000	25,006	1,767	0,9699
	75,000	75,136	0,757	0,9699
	225,000	224,702	1,481	0,9699
161229	0,01	1,020	5,707	0,7828
	4,150	4,546	1,482	0,7828
	8,300	7,817	1,963	0,7828
	25,000	25,112	2,202	0,7828
	75,000	74,842	0,574	0,7828
	225,000	225,896	0,167	0,7828
180116	0,01	0,819	12,386	0,8035
	4,150	4,231	1,442	0,8035
	8,300	7,958	4,208	0,8035
	25,000	25,202	0,748	0,8035
	75,000	74,550	0,067	0,8035
	225,000	227,183	3,021	0,8035

Abréviation : CV : coefficient de variation

### 5.3. Vérification des caractéristiques de performance de la détection des anticorps anti-adalimumab (anti-ADA)

#### Méthodologie et résultats

- Exactitude (anti-ADA)

L'exactitude de la méthode a été évaluée par un programme de contrôle externe de la qualité (échange inter-laboratoires avec le laboratoire Dynacare Next). Les résultats générés par les deux laboratoires étaient comparables malgré l'utilisation d'une méthode

différente par les laboratoires participants (Progenika Biopharma S.A., Promonitor<sup>MC</sup>-Anti-ADL, 5090330000, technique manuelle) et le biais varie de 20 à 50 % \*(tableau 2).

L'exactitude n'a pu être démontrée à travers une comparaison de méthodes comme c'est le cas pour l'ADA (figures 1 et 2). Le demandeur mentionne qu'il n'y avait pas de patients positifs pour les anti-ADA et que la prévalence des patients qui développent des anti-ADA est très faible en raison de la nature complètement humanisée de l'ADA. Le demandeur mentionne également que l'analyse est de toute façon utilisée en mode qualitatif par les médecins étant donné l'absence de recommandations officielles concernant l'utilisation d'un seuil quantitatif (cut-off).

- Précision (anti-ADA)

La précision inter-essais a été évaluée par un programme de contrôle interne de la qualité pour 2 concentrations et 3 lots différents (tableau 5). La concentration du contrôle de la qualité au niveau 1 (CQ Niveau 1) doit être inférieure à la concentration du calibrateur F qui est de 3,125 AU/ml. Une valeur arbitraire moyenne de 1,563 AU/ml a été assignée au CQ Niveau 1 pour faciliter le suivi. Toutes les analyses du CQ Niveau 1 étaient conformes. La concentration du CQ Niveau 2 doit être supérieure à la concentration du calibrateur C qui est de 25 AU/ml. Une valeur arbitraire moyenne de 87,5 AU/ml a été assignée au CQ Niveau 2 pour faciliter le suivi (tableau 5). Toutes les analyses du CQ Niveau 2 étaient conformes. Selon le demandeur, la précision inter-essais excède celle rapportée par le fournisseur.

**Tableau 5 Précision inter-essais des mesures d'ADA en utilisant des concentrations et des lots différents**

LOT	NIVEAU 1; CV	NIVEAU 2; CV
0902000036 (n=2)	1,563 AU/ml; 53,23 %	87,50 AU/ml; 2,91 %
0902000040 (n=6)	1,563 AU/ml; 158,72 %	87,50 AU/ml; 4,19 %
0902000041 (n=6)	1,563 AU/ml; 79,11 %	87,50 AU/ml; 5,69 %

Abréviation : CV : coefficient de variation

- Linéarité et intervalle de mesure (anti-ADA)

La linéarité et l'intervalle de mesure ont été évalués en effectuant l'analyse des échantillons d'étalonnage (duplicata, 3 lots différents). La courbe d'étalonnage est de type sigmoïde log/lin et la méthode est linéaire jusqu'à 200 AU/ml telles que rapportées par le fournisseur (tableau 6).

**Tableau 6 Linéarité et intervalle de mesure issus de l'analyse de trois lots distincts**

LOT	CONCENTRATION ATTENDUE (ng/ml)	CONCENTRATION CALCULÉE (ng/ml)	CV (%)	r <sup>2</sup>
0902000036	3,125	3,358	1,498	0,9994
	6,250	6,036	4,410	0,9994
	12,500	12,276	5,211	0,9994
	25,000	25,362	1,611	0,9994
	50,000	49,828	0,138	0,9994
	200,000	200,661	3,817	0,9994
0902000040	3,125	3,149	0,829	0,9995
	6,250	5,988	4,034	0,9995
	12,500	13,160	0,807	0,9995
	25,000	24,266	1,616	0,9995
	50,000	50,430	2,165	0,9995
	200,000	200,153	1,984	0,9995
0902000041	3,125	3,345	0,010	0,9993
	6,250	5,991	6,576	0,9993
	12,500	12,166	10,482	0,9993
	25,000	25,843	7,954	0,9993
	50,000	49,464	0,640	0,9993
	200,000	200,233	0,838	0,9993

Abréviation : CV : coefficient de variation

## 6. RÉSUMÉ DE LA DÉLIBÉRATION

Comme cette analyse est réalisée à partir d'un test normalisé (trousse commerciale approuvée par Santé Canada), le CSABM ne demandera pas de données de vérification analytique supplémentaire comme c'est le cas pour les tests développés en laboratoire (LDT) où des données de validation analytique sont nécessaires.

## 7. RECOMMANDATION DE L'INESSS

DÉTECTION DE L'ADALIMUMAB ET DES ANTICORPS ANTI-ADALIMUMAB PAR ELISA

### La recommandation de l'INESSS

Considérant que l'utilité de l'analyse a déjà été reconnue et qu'il s'agit d'une évaluation en phase II, les données de validation analytique ont été jugées :

- Complètes
- Incomplètes

### Précisions accompagnant la recommandation

- Il est important de mentionner à l'établissement demandeur (désigné) que les tests normalisés doivent être utilisés en conformité avec les spécifications du fabricant (sans modification au protocole), sans quoi elles sont considérées comme LDT (norme ISO 15189).

## RÉFÉRENCES

- Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Détection de l'adalimumab et des anticorps anti-adalimumab par ELISA. Québec, Qc : INESSS; 2017. Disponible à :  
[https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse\\_biomedicale/Octobre\\_2017/02-INESSS\\_Detection\\_adalimumab\\_anticorps\\_anti-adalimumab\\_elisa.pdf](https://www.inesss.qc.ca/fileadmin/doc/INESSS/Analyse_biomedicale/Octobre_2017/02-INESSS_Detection_adalimumab_anticorps_anti-adalimumab_elisa.pdf).
- National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Therapeutic monitoring of TNF-alpha inhibitors in Crohn's disease (LISA-TRACKER ELISA kits, IDKmonitor ELISA kits, and Promonitor ELISA kits). Londres, Angleterre : NICE; 2016. Disponible à :  
<https://www.nice.org.uk/guidance/dg22>.
- Régie de l'assurance-maladie du Québec (RAMQ). Liste des médicaments – 18 décembre 2019. Québec, Qc : RAMQ; 2019. Disponible à :  
[https://www.ramq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/liste\\_med/2019/liste\\_med\\_2019\\_12\\_18\\_fr.pdf](https://www.ramq.gouv.qc.ca/SiteCollectionDocuments/liste_med/2019/liste_med_2019_12_18_fr.pdf).

*Institut national  
d'excellence en santé  
et en services sociaux*

**Québec** 

### Siège social

2535, boulevard Laurier, 5<sup>e</sup> étage  
Québec (Québec) G1V 4M3  
418 643-1339

### Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12<sup>e</sup> étage, bureau 1200  
Montréal (Québec) H3A 2S9  
514 873-2563

[inesss.qc.ca](http://inesss.qc.ca)

