

Biológiai terápiás szerek szintmonitorozása IBD-ben

Kovács Krisztián

Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet

Mi a TDM?

Multidiszciplináris megközelítés: orvostudomány-farmakológia-analitika

Definíció: A terápiás gyógyszerszint monitorozás (TDM) az a klinikai gyakorlat, amikor meghatározott időközönként specifikus gyógyszereket vizsgálunk, a beteg véráramában állandó koncentráció fenntartása érdekében, ezáltal optimalizálva az egyéni adagolási rendet.

A gyógyszerek többségénél szüségtelen a TDM alkalmazása. Főként szűk terápiás tartományú gyógyszerek, jelentős farmakokinetikai variabilitással rendelkező gyógyszerek, olyan gyógyszerek esetében, amelyeknél a célkoncentrációk nehezen monitorozhatók, valamint ismertén káros hatásokat okozó gyógyszerek monitorozására használják.

[Overview of Therapeutic Drug Monitoring - PMC \(nih.gov\)](#)

Mi a TDM?



Biológiai terápiás szerek TDM-je

Biológiai terápiás szerek esetében a cél a megfelelő terápiás gyógyszerkoncentráció beállítása mellett a szer hatásvesztésének előrejelzése, illetve felderítése. Ezért

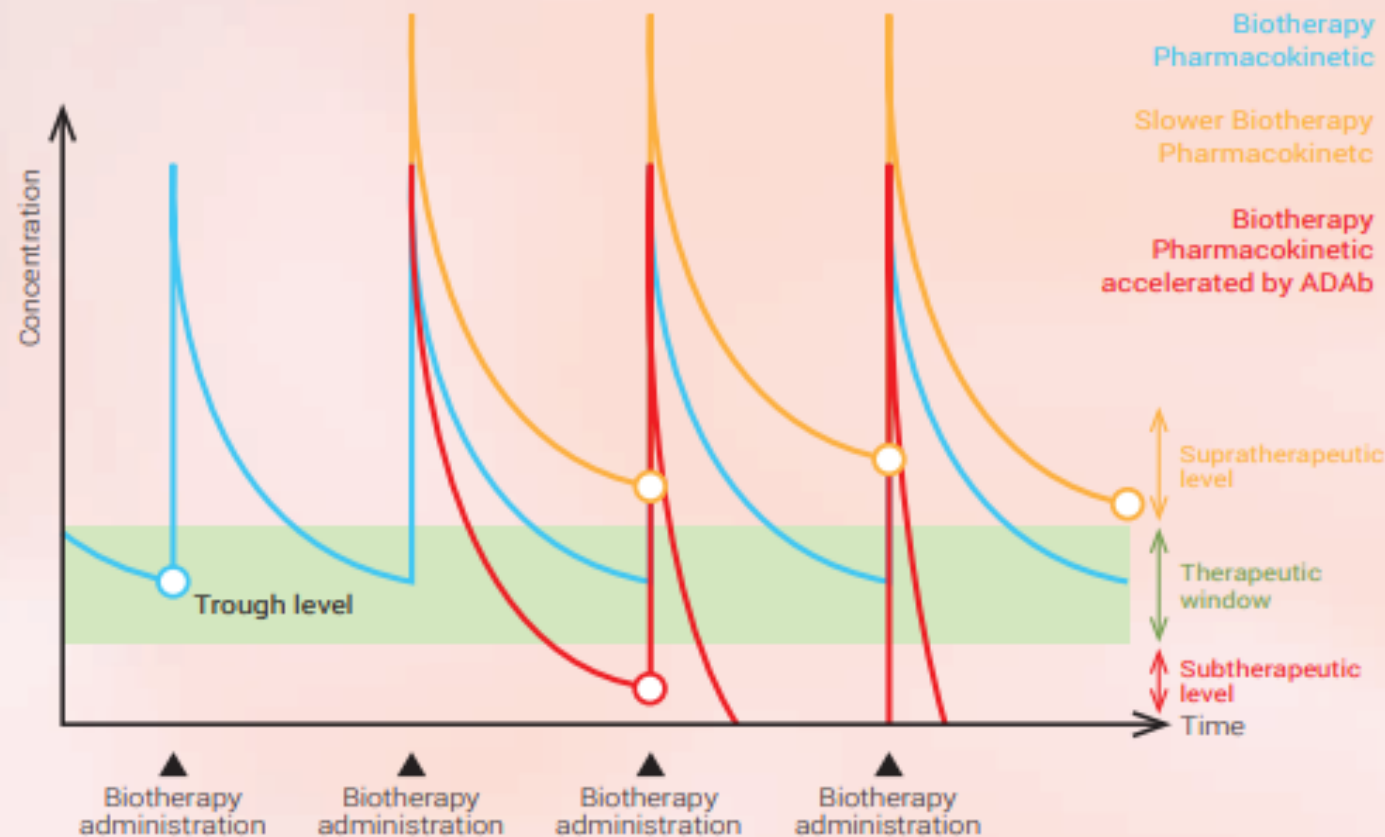
- gyógyszer szintet
- a gyógyszer ellen termelődött specifikus antitestet is monitorozzuk.

Biológiai terápiás szerek TDM-je

Pharmacokinetics and pharmacodynamics of biological therapies are highly variable among patients.

Patients with higher dose of drug or slower pharmacokinetics may have drug trough level above the therapeutic window (supratherapeutic). Higher trough levels may increase side effects.

Patients with lower dose due to the presence of anti-drug antibodies or with low serum albumin concentration or high baseline CRP concentration may have drug trough levels below the therapeutic window (subtherapeutic), leading to reduced drug efficacy.



<https://www.clsdiagnostics.com/files/lisa-tracker-brochure-290519.pdf>

Mik azok a biológiai terápiák?

A biológiai terápiák olyan kezelési módok, melyeknek célja a szervezet immunrendszerének a betegségek elleni küzdelemre való stimulálása, vagy helyreállítása.

DE,

A biológiai terápiák lehetnek ún. BRM-ek (biológiai válaszmódosítók) is.

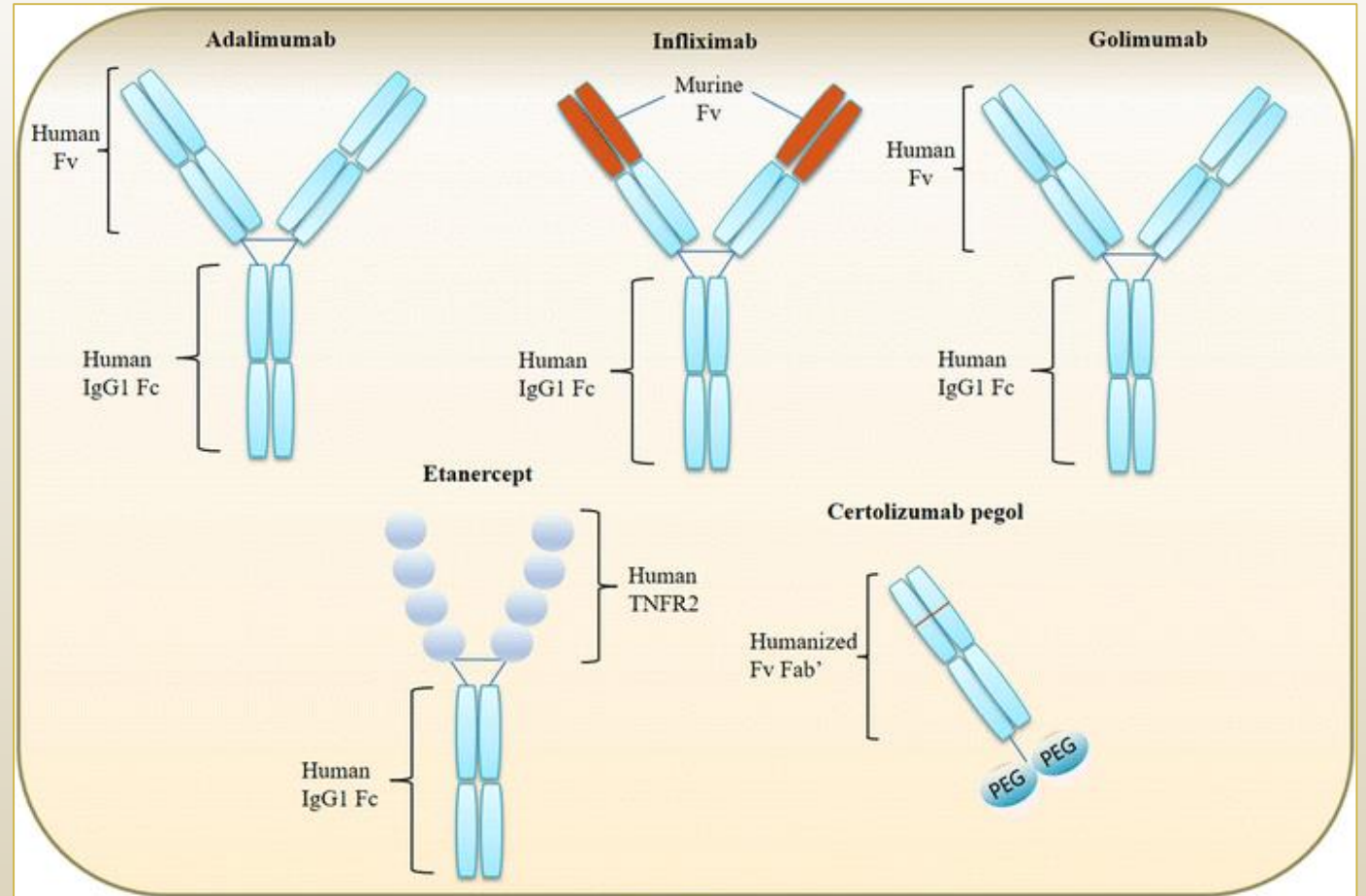
Főként **monoklonális antitestek**, amiket úgy terveztek, hogy megtámadják a rendellenes sejtek által expresszált specifikus fehérjéket.

Lehetnek sejtnövekedés gátlók, jelátvitel gátlók, gyulladásgátlók

mAb: egér lép-sejteket, mielóma sejtekkel fúzionáltatva szelektív táptalajon hibridómákat létrehozva termeltetik a monoklonális antitesteket

És IBD-ben?

A monoklonális antitestek monovalens affinitással rendelkeznek: csak ugyanahhoz az epitóphoz kötődnek.



Az adalimumab humán IgG1 Fc- és Fv-részeket tartalmaz. Az infliximab egy egér anti-TNF-alfa monoklonális antitest variábilis régióit tartalmazza az állandó humán IgG1 Fc mellett.

https://www.researchgate.net/figure/The-molecular-structure-of-five-TNF-a-inhibitors-Adalimumab-and-golimumab-both-contain_fig1_316362512

Biológiai terápiák IBD-ben

Adalimumab

Infliximab



Tumor Nekrózis Faktor α -gátló hatás

Vedolizumab - Specifikusan kötődik az $\alpha 4\beta 7$ -integrinhez, amely a bélben lévő T-helper limfocitákon expresszálódik, így csökkenti a gastrointestinalis gyulladást

Ustekinumab - IL-12 és IL-23 direkt gátló hatás

Mérések, mérőmódszer I.

„DUO”-kitek használata,
egymás melletti
gyógyszer és gyógyszer
ellenes antitest mérést
tesz lehetővé

CE-IVD



Mérések, mérőmódszer II.

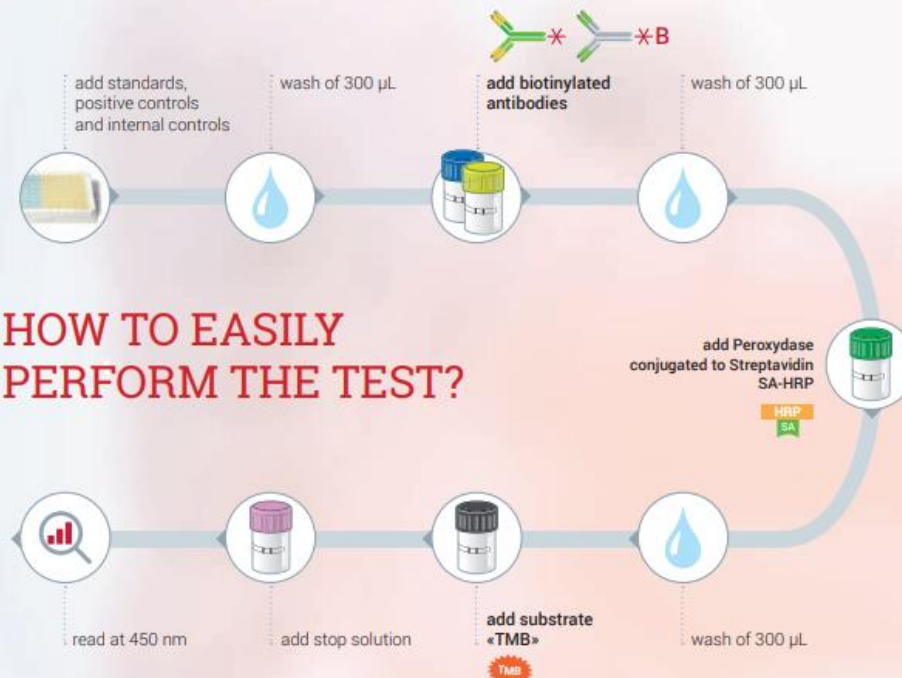
Minták és kontrollok hígítása

Infliximab	Anti-Infliximab
1/201	1/2

Eljárás

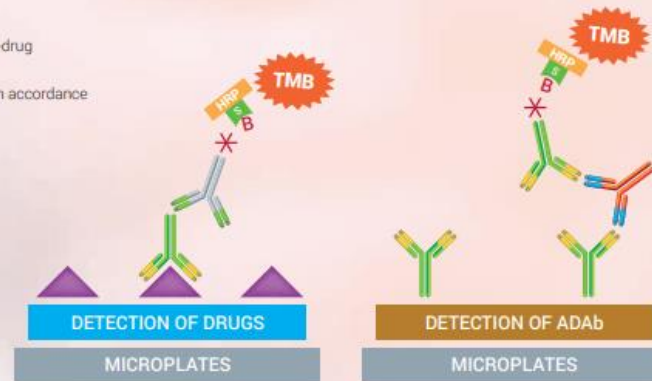
Standardok/hígított minták	100 µl/well
Inkubáció	1 órát szobahőn
Mosás	3x300 µl/well hígított TDL pufferrel
Biotinált specifikus antitest	100 µl/well
Inkubáció	1 órát szobahőn
Mosás	3x300 µl/well hígított TDL pufferrel
HRP-streptavidin	100 µl/well
Inkubáció	1/2 órát szobahőn
Mosás	3x300 µl/well hígított TDL pufferrel
TMB-szubsztrát	100 µl/well
Inkubáció	15 perc szobahőn, fénytől védve
STOP-leállító oldat	100 µl/well

HOW TO EASILY PERFORM THE TEST?



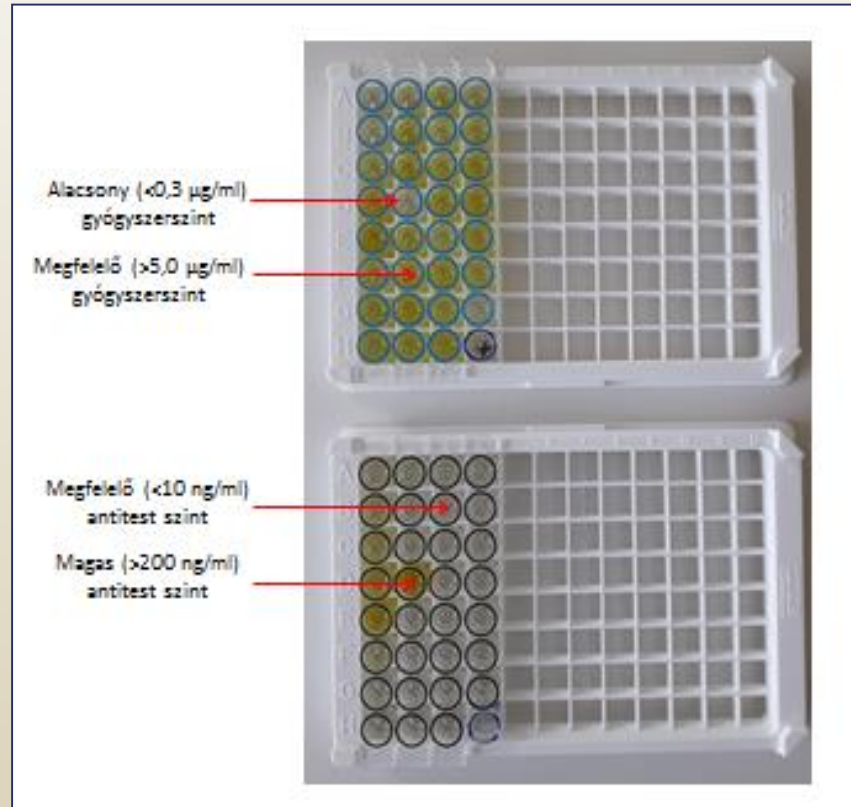
- Double detection of both drug and anti-drug antibodies within the same plate
- Detection of free anti-drug antibodies in accordance with international guidelines

- ▲ drug target or anti-idiotype
- Y drug
- Y*B Biotinylated drug
- YB ADAb (anti-drug antibody)
- Y*B Biotinylated anti-human IgG or Biotinylated anti-drug



<https://www.clsdiagnostics.com/files/lisa-tracker-brochure-290519.pdf>

Mérések, mérőmódszer III.



Gyógyszorszint mérése, a well-eket gyárilag bevonták humán $\text{TNF}\alpha$ -val (adalimumab, infliximab)

Gyógyszer ellenes antitest mérése, a well-eket gyárilag bevonták specifikus gyógyszer antitesttel (adalimumab, infliximab)

Mérések, mérőmódszer IV.

A gyógyszer – paralel – antitest mérés előnyei:

- Megjelenő antitestek nemkívánatos, adverz reakciókat, hatáscsökkenést, hatásvesztést jelezhetnek előre.
- Költséghatékony: egy kitben megtalálható a kétféle antitest mérésére szolgáló reagenskészlet.
- Lerövidíti az eredményközlés folyamatát

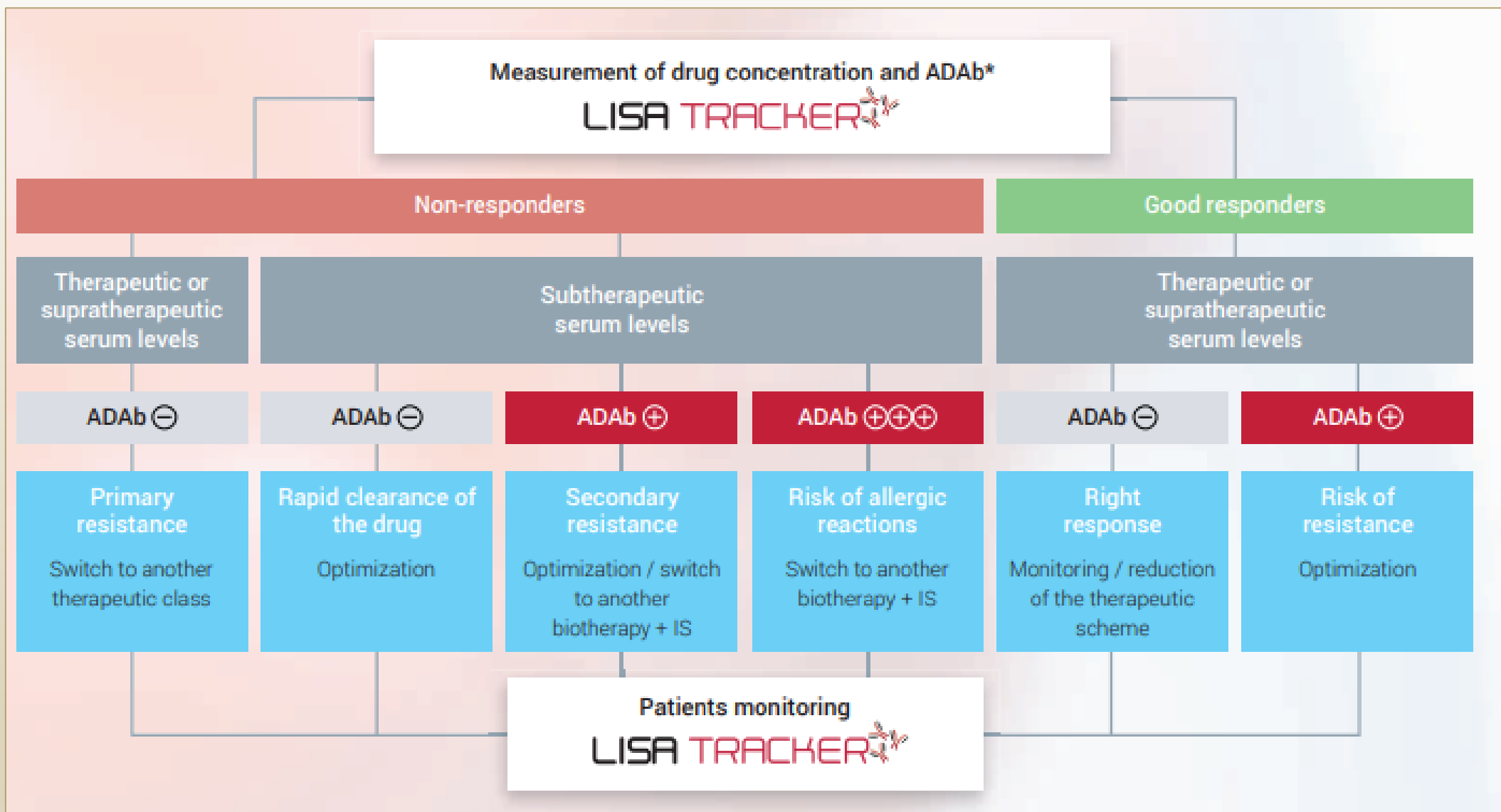
Assay range-k:

- Adalimumab/infliximab: 0,3-20 µg/ml; anti-Adalimumab/anti-Infliximab: 10-200 ng/ml
- Ustekinumab: 0,4-10 µg/ml; anti-Ustekinumab: 3-100 UA/ml
- Vedolizumab: 2-60 µg/ml; anti-Vedolizumab: 35-500 ng/ml

Immunogenicity of Biologics	Crohn's Disease	Ulcerative Colitis
Infliximab & Infliximab Biosimilar (CT-P13)	up to 83% ⁴	up to 46% ⁴
Adalimumab	up to 35% ⁴	up to 5% ⁴
Certolizumab Pegol	up to 25% ⁴	up to 25% ⁴
Vedolizumab	up to 3.7% ⁴	up to 3.7% ⁴
Ustekinumab	up to 1% ^{4,27}	up to 1% ^{4,22}
Golimumab	-	up to 19% ⁵

<https://www.clsdiagnostics.com/files/lisa-tracker-brochure-290519.pdf>





<https://www.clsdiagnostics.com/files/lisa-tracker-brochure-290519.pdf>


A gyártó által ajánlott cut-off értékek

Biologic drug	Treatment	Suggested drug concentration thresholds for clinical response/remission (µg/ml)	Suggested drug concentration thresholds for mucosal healing (µg/ml)
Infliximab	Induction (week 2)	≥ 20	≥ 25
	Induction (week 6)	≥ 10	N/A
	Postinduction (week 14)	≥ 3	≥ 7
	Maintenance	≥ 3	≥ 7
Adalimumab	Postinduction (week 14)	≥ 5	≥ 7
	Maintenance	≥ 3	≥ 8
Certolizumab pegol	Postinduction (week 6)	≥ 32	N/A
	Maintenance	≥ 15	N/A
Golimumab	Postinduction (week 6)	≥ 2.5	N/A
	Maintenance	≥ 1	N/A
Vedolizumab	Induction (week 2)	≥ 28	N/A
	Induction (week 6)	≥ 24	N/A
	Postinduction (week 14)	≥ 15	≥ 17
	Maintenance	≥ 12	≥ 14
Ustekinumab	Postinduction (week 8)	≥ 3.5	N/A
	Maintenance	≥ 1	≥ 4.5

<https://www.theradiag.com/en/theranostic-2/therapeutic-drug-monitoring-biologics/therapeutic-thresholds-en/>

Minőségbiztosítás

- Idei évtől kezdődően mind a négy vizsgálatunkkal részt veszünk külső körvizsgálatban.
- CTCB Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique-francia minőségellenőrző szervezet
- Évi három minta kiküldése
- Gyógyszerszint és ellenanyag-szint vizsgálatát jelenti



**Résultats individuels
Adalimumab 231
Annexe IV**

Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique
Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973
et enregistrée sous le n° W313002633
CTCB - 33 route de Bayonne - 31300 TOULOUSE
Tél : 05 34 51 49 80 – Fax : 01 57 67 25 90
Email : secretariat@ctcb.com – site Internet : www.ctcb.com
Siret : 428 789 853 000 28 – APE : 8559A

Code Laboratoire / Code Saisie : 1382-1 (DAS APE ELITE)
Date de clôture de l'enquête : 04/04/2023

Historique de vos différentes participations :

Echantillon	Vos résultats		Toute technique			Par réactif			Note qualitative
	Quantitatif	Qualitatif	Biais	Score Z ou Z'	Note LA	Biais	Score Z ou Z'	Note LA	
Dosage du taux résiduel d'adalimumab									
2311	11,62	-	-0,452	-0,163	-	0,493	0,174	-	-
2321	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2331	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dosage des anticorps anti-adalimumab									
2311	<10	Négatif	-	-	-	-	-	-	A
2321	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2331	-	-	-	-	-	-	-	-	-

****Légende**** 0 ≤ | Score Z / Z' | ≤ 2 : **Conforme** 2 < | Score Z / Z' | < 3 **À surveiller** | Score Z / Z' | ≥ 3 : **Non conforme**
A = Résultat conforme - B = Résultat acceptable - C = Résultat à analyser par le laboratoire - D = Résultat non conforme - N.E. = Non évalué - N.D. = Non déterminé

Vizsgálatkérések összetétele: (2023-as adat)



Külsős vizsgálatkérők, fő partnereink:

- Pécs
 - Szeged
 - Debrecen
 - Szombathely
 - Miskolc
-
- Heim Pál Gyermekkórház
 - Budai Irgalmasrendi kórház
 - Bethesda Gyermekkórház




Az eredmények

- Egyedülálló vizsgálati paletta IBD-ben.
- Kiváló együttműködés a klinikusokkal.
- Mai napig 1348 gyógyszer és antitest vizsgálatot végeztünk el.
- A vizsgálatok 2020 júliusi bevezetése óta 2022. 11. hónapban történt egyszeri, inflációkövető áremelés.
- TAT-idő: 14 napról <10 nap
- Egyre növekvő vizsgálati számok

A vizsgálatokról még néhány információ

Vizsgálat neve	OENO Kód	Pont	Minta	Eredmény	Kérőlap (MEDSOL)	Vizsgálat helye		
Adalimumab és anti-adalimumab szérumban - az egyetem klinikái számára	Térítés ellenében - 23000 Ft		Natív vér	14 munkanap	KPLARUT	Központi Lab. (Pest)		
Adalimumab és anti-adalimumab szérumban - egyetemen kívüliek részére	Térítés ellenében - 30000 Ft		Natív vér	14 munkanap	KPLARUT	Központi Lab. (Pest)		

Laboratóriumi vizsgálatkérő lap

	Szemmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet Igazgató: Dr. Vásárhelyi Barna egyetemi tanár	
	Központi Laboratórium (Pest) Cím: 1082 Budapest, Üllői út 78. 1. emelet Telefon: 06-1-210-0278/62098; 62084 E-mail: kplabor.lm@med.semmelweis-univ.hu Laboratórium vezető: Dr. Kovács Ibolya	
Beteg neve (azonosító):		
Beteg születési ideje:		
Beteg TAJ száma:	Térítési kategória: 4	
Beteg lakcíme:		
Beteg anyja neve:		
Beküldő intézmény:		
Mintavétel ideje:	Iránydiagnózis (BNO):	
Beküldő orvos adatai		
név:	pecsétszám:	e-mail cím (leletküldéshez):
Vizsgálat megnevezése		
Vedolizumab és anti-Vedolizumab meghatározása, ELISA módszerrel		
<p><i>Szükséges minta:</i> géles csőbe vett natív vér (piros kupakos cső)*</p> <p><i>A mintát az alábbi címre kérjük elküldeni:</i></p> <p>Szemmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet Központi Laboratórium (Pest) 1082 Budapest, Üllői út 78. 1. emelet</p> <p><i>Kapcsolattartó:</i> Kovács Krisztián (+36-20-666-3756); kovacs.krisztian1@med.semmelweis-univ.hu</p> <p><small>*Amennyiben a mintaszállítás nem a mintavétel napján történik, úgy a mintát lecentrifugálva, a szérumot külön csőben lefagyaszta kérjük tárolni és mielőbb a laboratóriumba juttatni!</small></p>		
Dátum:		
_____ Beküldő orvos (pecsét)		

Köszönöm a figyelmet!

Kovács Krisztián