



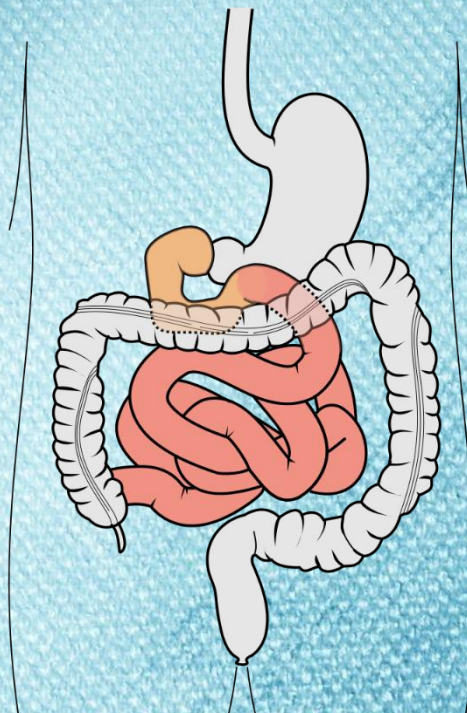
Universidad de Sevilla



Facultad de Farmacia

COMPARACIÓN ENTRE LA PRUEBA RÁPIDA POINT OF
CARE (POC) Y UN MÉTODO DE REFERENCIA ELISA
PARA LA MONITORIZACIÓN TERAPÉUTICA DE
INFLIXIMAB Y ADALIMUMAB EN ENFERMEDAD
INFLAMATORIA INTESTINAL

Patricia Reina Orozco





UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Farmacología

Titulación: GRADO EN FARMACIA

TRABAJO FIN DE GRADO

Trabajo experimental

Título: Comparación entre la prueba rápida Point of Care (POC) y un método de referencia ELISA para la monitorización terapéutica de infliximab y adalimumab en enfermedad inflamatoria intestinal

Title: Comparison between the Point of Care (POC) rapid test and the ELISA reference method for therapeutic monitoring of infliximab and adalimumab in inflammatory bowel disease

Alumno/a: Patricia Reina Orozco

Tutor/a: Vicente Merino Bohórquez

Sevilla a 8 de junio de 2023

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La monitorización terapéutica (TDM) de infliximab (IFX) y adalimumab (ADL) en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) optimiza los resultados de la terapia biológica. El ensayo más utilizado para la TDM se basa en inmunoabsorción enzimática (ELISA). No obstante, el reciente desarrollo de técnicas Point of Care (POC) basadas en inmunocromatografía de flujo lateral (Quantum Blue®) supone una gran ventaja ya que permite tomar decisiones inmediatas mejorando la efectividad de la TDM.

OBJETIVOS: Evaluar el rendimiento de Quantum Blue® mediante su comparación con la técnica de referencia ELISA para la TDM de pacientes con EII en tratamiento con IFX o ADL.

METODOLOGÍA: Estudio prospectivo, observacional y unicéntrico realizado en 354 muestras de sangre de pacientes con EII en tratamiento con IFX o ADL. Las muestras se analizaron mediante ELISA y Quantum Blue®. La correlación entre ambos ensayos se determinó utilizando el coeficiente de Pearson y el análisis de regresión Passing-Bablok. Las diferencias cuantitativas se obtuvieron a través del análisis gráfico Bland-Altman y la prueba t-Student. Para la comparación cualitativa se determinó el coeficiente kappa tras la estratificación de los resultados según intervalos terapéuticos: < 3, 3-8, > 8 (µg/mL) para IFX y < 5, 5-12, > 12 (µg/mL) para ADL.

RESULTADOS: Se midieron los niveles de IFX en 217 muestras. Ambos métodos mostraron una alta correlación ($r=0,867$) y una concordancia cualitativa substancial ($k=0,72$) con un grado de acuerdo del 78,8%. El gráfico Bland-Altman reveló un bias de $-2,27$ µg/mL. Igualmente, las 137 muestras de pacientes con ADL analizadas con ambas técnicas mostraron una alta correlación ($r=0,853$) y una concordancia cualitativa casi perfecta ($k=0,81$) con un acuerdo del 88,3%. En este caso, la diferencia media obtenida mediante Bland-Altman fue $-1,91$ µg/mL.

CONCLUSIONES: Los resultados obtenidos mediante Quantum Blue® y ELISA son equivalentes, por lo que ambos ensayos son equiparables.

Palabras clave: ELISA, Point of Care (POC), monitorización terapéutica de fármacos (TDM), infliximab (IFX), adalimumab (ADL).

ABSTRACT

BACKGROUND: Therapeutic monitoring (TDM) of infliximab (IFX) and adalimumab (ADL) in patients with inflammatory bowel disease (IBD) optimizes the results of biological therapy. The most widely used assay for TDM is based on enzyme immunoabsorption (ELISA). However, the recent development of Point of Care (POC) techniques based on lateral flow immunochromatography (Quantum Blue) is a great advantage as it allows making immediate decisions improving the effectiveness of TDM.

AIM: To evaluate Quantum Blue's performance by comparing it with the ELISA reference technique for TDM in patients with IBD in treatment with IFX or ADL.

METHODS: Prospective, observational and unicentric study performed in 354 blood samples from patients with IBD in treatment with IFX or ADL. Samples were analyzed using ELISA and Quantum Blue. The correlation between the two trials was determined using the Pearson coefficient and the Passing-Bablok regression analysis. Quantitative differences were obtained through Bland-Altman graphical analysis and the t-Student test. For qualitative comparison, the kappa coefficient was determined after stratification of the results according to therapeutic intervals: < 3, 3-8, > 8 ($\mu\text{g/mL}$) for IFX and < 5, 5-12, > 12 ($\mu\text{g/mL}$) for ADL.

RESULTS: IFX levels were measured in 217 samples. Both methods showed a high correlation ($r=0,867$) and a substantial qualitative concordance ($k=0,72$) with an agreement degree of 78,8%. The Bland-Altman graph revealed a bias of $-2,27 \mu\text{g/mL}$. Likewise, the 137 samples of patients with ADL analyzed with both techniques showed a high correlation ($r=0,853$) and a near-perfect qualitative concordance ($k=0,81$) with an agreement of 88,3%. In this case, the mean difference obtained by Bland-Altman was $-1,91 \mu\text{g/mL}$.

CONCLUSIONS: The results obtained by Quantum Blue and ELISA are equivalent, so both tests are comparable.

Keywords: ELISA, Point of Care (POC), therapeutic drug monitoring (TDM), infliximab (IFX), adalimumab (ADL).

Contenido

1.	INTRODUCCIÓN.....	5
1.1.	Enfermedad inflamatoria intestinal.....	5
1.2.	Clasificación y tipología de la enfermedad inflamatoria intestinal	5
1.3.	Diagnóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal	7
1.4.	Tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal	7
1.5.	Monitorización terapéutica de fármacos en enfermedad inflamatoria intestinal	11
1.5.1.	Definición y objetivos de la TDM.....	11
1.5.2.	Puntos de corte de los fármacos biológicos para la TDM	11
1.5.3.	Actitud proactiva y reactiva.....	12
1.5.4.	Técnicas analíticas para la TDM.....	12
2.	OBJETIVOS	20
3.	METODOLOGÍA.....	20
3.1.	Procesamiento de las muestras de sangre	20
3.2.	Análisis estadísticos.....	21
4.	RESULTADOS	23
4.1.	Infliximab.....	23
4.1.1.	Análisis de regresión Passing-Bablok.....	23
4.1.2.	Análisis gráfico Bland-Altman.....	23
4.1.3.	Coefficiente kappa	24
4.2.	Adalimumab	26
4.2.1.	Análisis de regresión Passing-Bablok.....	26
4.2.2.	Análisis gráfico Bland-Altman.....	26
4.2.3.	Coefficiente kappa	27
5.	DISCUSIÓN.....	29
6.	CONCLUSIONES	33
7.	AGRADECIMIENTOS.....	33
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	33

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Enfermedad inflamatoria intestinal

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) son enfermedades inmunomediadas desencadenadas por una respuesta anormal a factores ambientales y genéticos que provocan una disbiosis en el intestino que termina dañando la mucosa intestinal (Merino y Sánchez, 2022; Seyedian et al., 2019).

Aunque la causa exacta de la EII se desconoce, la hipótesis más aceptada en la actualidad sostiene que se debe a factores ambientales (tabaco, dieta, estrés, infecciones bacterianas recurrentes...) que aumentarían la permeabilidad de la barrera epitelial intestinal en sujetos genéticamente predispuestos. Esto provocaría la translocación de bacterias comensales y productos microbianos pertenecientes a la flora intestinal normal hacia la pared del tubo digestivo, desencadenando una respuesta inmunitaria aguda mediada por células (linfocitos T) (Shanahan, 2002).

En condiciones normales, las células presentadoras de antígeno (células dendríticas y macrófagos) presentes en la mucosa van a activar a los linfocitos T y el resultado es la producción de citoquinas de tipo T_H1 , T_H2 , T_H3 y T_R1 que van a generar un exceso de citoquinas proinflamatorias para combatir al agente patógeno. Una vez eliminado dicho patógeno, las citoquinas antiinflamatorias detienen el proceso inflamatorio. Por el contrario, en los pacientes que padecen EII, esta mucosa se encuentra alterada (Valdés, 2020). La producción excesiva de citoquinas proinflamatorias unido a un fallo en los mecanismos reguladores antiinflamatorios provoca la inflamación crónica del intestino y la destrucción tisular (Neurath, 2014).

Por tanto, la EII es el resultado de la interacción entre factores genéticos, ambientales y microbianos (Almradi et al., 2020).

El número de pacientes con esta enfermedad está aumentando progresivamente. La localización geográfica (países desarrollados), la dieta (alcohol, café, alimentos grasos, refrescos, comidas picantes, productos lácteos...), las edades tempranas (15-35), el uso de antibióticos o el estrés son factores que aumentan su prevalencia e incidencia ya que pueden desencadenar su aparición o recaídas (Ng et al., 2017; Sairenji et al., 2017; Seyedian et al., 2019).

1.2. Clasificación y tipología de la enfermedad inflamatoria intestinal

Las principales formas de EII son la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC), ambas caracterizadas por ser enfermedades crónicas, de origen idiopático y con una amplia variabilidad clínica y evolutiva que provocan la inflamación del tracto gastrointestinal. Además, comparten

algunos síntomas entre los que destacan diarrea, pérdida de peso y apetito, fiebre y/o anemia (Seyedian et al., 2019). Cuando es imposible distinguir si la EII se trata de CU o de EC, hablamos de colitis indeterminada. Ocurre en el 5-15 % de los casos y es más común en niños que en adultos. En todas ellas se alternan periodos de actividad o recaída y periodos de remisión asintomáticos, ambos de duración impredecible (Baumgart y Sandborn, 2007). Hasta el 90% de los pacientes tendrán una o más recaídas tras el primer brote y la recaída temprana o enfermedad activa durante los dos primeros años se relaciona con un pronóstico desfavorable de la enfermedad (Lamb et al., 2019).

La CU afecta principalmente a la mucosa del colon y al recto y produce una inflamación continua y difusa. Son comunes las heces con sangre, pus y moco (Lamb et al., 2019). En cambio, la EC puede afectar a cualquier parte del tubo digestivo desde la boca hasta el ano y a todas sus capas (mucosa, serosa o muscular) y provoca una inflamación segmentaria o parcheada (figura 1). Son características las heces pastosas (raramente con sangre) y síntomas tales como dolor abdominal y malabsorción (déficit de folato, vitamina D y vitamina B12) (Seyedian et al., 2019). También es frecuente la aparición de complicaciones como úlceras, fístulas, abscesos y estenosis (Williams et al., 1981).

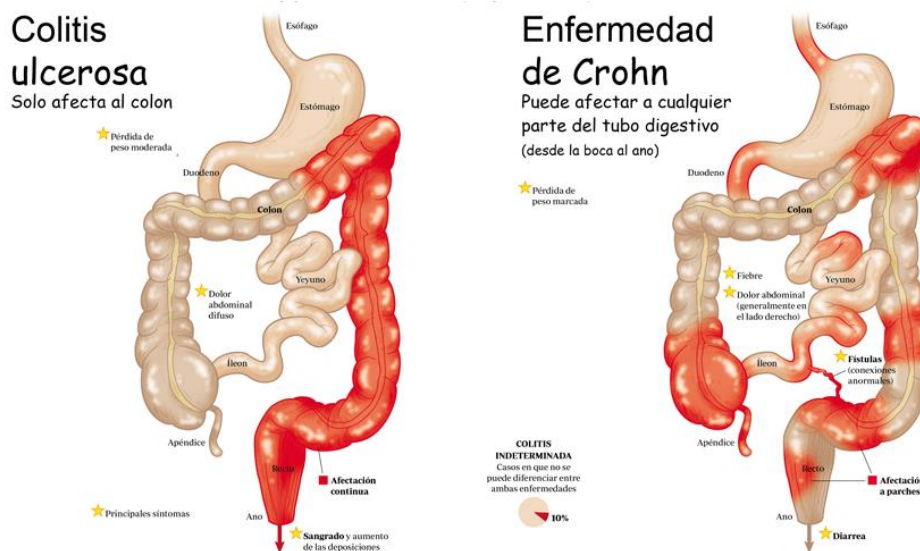


Figura 1. Principales síntomas y patrón inflamatorio de los pacientes que padecen colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn. Adaptado de Clínica Universidad de Navarra, disponible en: <https://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/enfermedades/enfermedad-crohn>

Las dos formas predominantes de EII también se diferencian en el patrón de citoquinas. La EC presenta un patrón de citoquinas tipo T_H1 que producen IL-2 e IFN- γ . Este último activa a los macrófagos, que producirán citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18). En cambio, la CU presenta un patrón de citoquinas mixto (T_H1 y T_H2). Las citoquinas tipo T_H2 producen IL-4, IL-5 e IL-10 y activan a las células natural killer (NK), que producirán IL-13 (Fuss et al., 2004; Neurath, 2014; Shanahan, 2002; Valdés, 2020).

1.3. Diagnóstico de la enfermedad inflamatoria intestinal

Ante la sospecha de EII, la principal prueba para establecer un diagnóstico diferencial es la ileocolonoscopia con toma de biopsias, radiología y/o bioquímica unido a la clínica del paciente (Nikolaus y Schreiber, 2007). Dado que los síntomas son muy inespecíficos se podrían confundir con el síndrome de intestino irritable (SII). Para diferenciar la EII y el SII se miden los niveles de calprotectina fecal, un biomarcador de inflamación intestinal que determina la presencia y/o grado del proceso inflamatorio y sus niveles son superiores en EII en comparación con el SII. Otro reactante de fase aguda que se utiliza es la proteína C reactiva (PCR), un marcador serológico con menor especificidad ya que se eleva en cualquier proceso inflamatorio, independientemente de su origen (Rodríguez-Moranta et al., 2012).

1.4. Tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal

La EII influye considerablemente en la calidad de vida de los pacientes, pudiendo llegar a ser invalidante. Por ello, es fundamental un diagnóstico precoz y una intervención rápida y eficaz para modificar su curso clínico y que el paciente pueda desarrollar una actividad personal, social y laboral con normalidad (Merino y Sánchez, 2022).

El tratamiento no es específico sino individualizado y tiene como objetivos minimizar los síntomas, evitar la aparición de brotes y/o complicaciones, alcanzar la remisión de la enfermedad y prevenir su progresión, siendo el fin último la curación de la mucosa intestinal (Neurath, 2013; Núñez et al., 2018; Sairenji et al., 2017; Strik et al., 2016). Los avances en el conocimiento sobre los mecanismos fisiopatológicos (información genética, cascada inflamatoria...) han permitido pasar de una terapia empírica a una terapia basada en la evidencia científica (Shanahan, 2002).

El tratamiento farmacológico de elección depende de la localización y extensión de la inflamación, la gravedad de los síntomas, los efectos secundarios y las características y respuesta del paciente (Seyedian et al., 2019). Una elevada extensión, el sexo masculino, la edad joven y marcadores inflamatorios elevados en el momento del diagnóstico aumentan la probabilidad de colectomía, reservada como último recurso (Lamb et al., 2019).

Como terapia de primera línea o terapia convencional para CU y EC en fase activa de leve a moderada se utilizan los aminosalicilatos (5-ASA o mesalazina) o derivados de ellos (sulfasalazina) por vía oral, tópica o rectal. Cuando no hay respuesta o hay intolerancia al 5-ASA y en los casos de CU y EC de moderada a grave, se utilizan corticosteroides (prednisolona, budesonida, dipropionato de beclometasona) por vía oral, rectal o intravenosa si hay hospitalización. Tienen una eficacia superior a los primeros, pero su uso se reserva a casos graves debido a que provocan efectos secundarios sistémicos significativos. Si no hay respuesta tras 2 semanas de tratamiento con corticosteroides o aparece dependencia a ellos, se pueden usar inmunosupresores como inhibidores de la calcineurina (ciclosporina A).

Por otro lado, si hablamos de EII en fase de mantenimiento, donde el objetivo es disminuir el riesgo y frecuencia de los brotes, la terapia estándar será de nuevo 5-ASA para CU y, en casos refractarios al 5-ASA en CU y como primera línea en EC, se utilizan tiopurinas (azatioprina, 6-mercaptopurina) o metotrexato (Lamb et al., 2019).

Todos estos fármacos se pueden utilizar solos o en combinación para optimizar el tratamiento (Sairenji et al., 2017; Seyedian et al., 2019).

Si el paciente no responde a este tratamiento convencional (fallo primario), pierde la respuesta con el tiempo (fallo secundario) o presenta alguna intolerancia o contraindicación al mismo, recurrimos a la terapia biológica, sola o en combinación con inmunosupresores. Los fármacos biológicos son moléculas de grandes dimensiones formadas por proteínas que se obtienen a partir de microorganismos vivos (Valdés, 2020). Entre las características de estos fármacos destacan su gran selectividad, alta eficiencia y baja toxicidad (Cai et al., 2021). Se trata de una opción terapéutica reciente que ha disminuido significativamente la morbilidad, mortalidad, hospitalizaciones y cirugías asociadas a EII, mejorando así la calidad de vida de los pacientes (Vogelaar et al., 2009; Weisshof et al., 2018).

Las citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias, las células implicadas en la cascada inflamatoria y los mecanismos que participan en el reclutamiento de linfocitos en el lugar de la inflamación van a ser las dianas de las terapias biológicas ya que están implicados en la patogénesis de la EII (Valdés, 2020).

Los primeros biológicos aprobados en Europa para el tratamiento de la EII fueron los agentes anti-TNF α , entre los que encontramos Infliximab (IFX), Adalimumab (ADL) y Golizumab (GOL). Estos fármacos son inhibidores del factor de necrosis tumoral α (TNF α), un potente inductor de la inflamación. Se unen con alta afinidad tanto a la forma soluble como a la forma transmembrana del TNF α bloqueándolo (Billiet et al., 2014; Bradley, 2008).

El TNF α se relaciona también con otras enfermedades autoinflamatorias como son la artritis reumatoide y psoriásica, la espondilitis anquilosante y la psoriasis. Sin embargo, pese a que los anti-TNF α también están indicados para estas patologías, donde verdaderamente encuentran su núcleo de actuación es en las EII debido a las limitadas opciones terapéuticas, al contrario de lo que ocurre en el resto de las enfermedades inflamatorias previamente enumeradas (Bradley, 2008; Castele et al., 2015; Monaco et al., 2014; Sánchez et al., 2008).

Los distintos anti-TNF α se diferencian en su naturaleza: IFX es un anticuerpo monoclonal quimérico (murino y humano); ADL es un anticuerpo monoclonal humano recombinante obtenido a partir de células de ovario de hámster chino; y GOL es un anticuerpo monoclonal humano (Bhattacharya y Osterman, 2020). Este último está indicado únicamente para la CU y su uso no está muy extendido. Por ello, nos vamos a centrar en el tratamiento de EII con IFX y ADL. El primero se administra por vía intravenosa en la unidad de día de los hospitales, mientras que el segundo se puede autoadministrar por vía subcutánea. La dosis de ambos varía en función de la fase clínica en la que se encuentre el paciente (inducción o mantenimiento) (Merino y Sánchez, 2022).

A pesar de su eficacia demostrada, del 13-40% de los pacientes no responden favorablemente al fármaco durante la fase de inducción (fallo primario) y del 23-46% pierden la respuesta con el tiempo durante la fase de mantenimiento desencadenando un brote (fallo secundario), sobre todo durante el primer año (Ben-Horin et al., 2013; Cai et al., 2021; Ding et al., 2016). Esto puede ocurrir cuando la principal vía de inflamación es independiente del TNF α (fallo farmacodinámico) o cuando no se alcanza la concentración mínima eficaz para que el fármaco ejerza su acción en el órgano diana (fallo farmacocinético), ya sea por mecanismos inmunomediados (formación de anticuerpos) o por mecanismos no inmunomediados (aumento del aclaramiento del fármaco) (Facchin et al., 2021; Pérez et al., 2018; Valdés, 2020).

La causa más frecuente de fracaso del tratamiento con terapias biológicas, debido a su naturaleza proteica, va a ser la inmunogenicidad. Este fenómeno está marcado por la presencia de anticuerpos anti-fármaco (AAF) (Detrez et al., 2017). El mecanismo de acción de los AAF puede ser directo o indirecto. Pueden neutralizar a los fármacos directamente impidiendo su unión a la diana (anticuerpos neutralizantes) o bien, pueden formar inmunocomplejos que aceleran el aclaramiento plasmático de los mismos, disminuyendo así su concentración sérica (anticuerpos no neutralizantes). En cualquier caso, el resultado es la reducción del efecto terapéutico (Ben-Horin et al., 2013).

Los factores que influyen en la inmunogenicidad de los anti-TNF α son el tipo de anticuerpo monoclonal (quimérico tiene mayor riesgo que humano), la estructura tridimensional o modificaciones transcripcionales, la vía de administración, el uso concomitante de inmunosupresores (la terapia combinada es más efectiva que la monoterapia ya que previene la formación de AAF y mejora la farmacocinética del biológico) y las características individuales del paciente (Baert et al., 2003; Colombel et al., 2010; Núñez et al., 2018; Ungar et al., 2016). Algunas de las causas que originan esta variabilidad interindividual son el sexo, el índice de masa corporal (IMC), la carga inflamatoria o extensión, la gravedad de la enfermedad o la existencia de polimorfismos genéticos que afecten al sistema reticuloendotelial responsable del catabolismo de estos fármacos (Alañón et al., 2020; Moss, 2014).

Los anti-TNF α son la terapia biológica de primera línea. Cuando no hay respuesta o existe intolerancia pasamos a vedolizumab (VED) como segunda línea de tratamiento, seguido de ustekinumab (UST) como tercera línea. Como última opción se utiliza tofacitinib, el cual no se incluye dentro de los fármacos biológicos.

VED es un anticuerpo monoclonal humanizado de tipo Ig G1 que actúa específicamente a nivel intestinal, por lo que tiene pocos efectos a nivel sistémico. Este fármaco es un antagonista de la integrina $\alpha_4\beta_7$, una molécula de adhesión linfocitaria que se expresa mayoritariamente en la membrana de los linfocitos T colaboradores (T_H) e impide su migración al intestino (Rosario et al., 2015; Soler et al., 2009; Wyant et al., 2016).

UST es un anticuerpo monoclonal humano Ig G1 que se une a la subunidad p40 que comparten las IL-12 e IL-23 y las inhibe, impidiendo la activación linfocitaria (linfocitos NK o Th CD4+) (Almradi et al., 2020; Feagan et al., 2016).

Tofacitinib es un inhibidor de las vías de señalización de las JANUS (JAK) quinasas. Es una opción muy atractiva dadas sus ventajas de administración oral, buena biodisponibilidad y ausencia de inmunogenicidad ya que es una molécula sintética muy pequeña. Su único inconveniente es la poca experiencia de uso (Danese et al., 2018; Sandborn et al., 2017; Tran et al., 2019).

En caso de que se agoten todas las opciones terapéuticas sin obtención de resultados beneficiosos se recurre al tratamiento quirúrgico, siempre como última opción (Seyedian et al., 2019).

En la figura 2 podemos ver una síntesis en forma de esquema de todo el tratamiento farmacológico anteriormente detallado e indicado para las dos formas predominantes de EII.

1.5. Monitorización terapéutica de fármacos en enfermedad inflamatoria intestinal

1.5.1. Definición y objetivos de la TDM

Una buena forma de prevenir la pérdida de respuesta a las terapias biológicas es la monitorización terapéutica de fármacos (TDM), que consiste en monitorizar las concentraciones plasmáticas del fármaco y/o de los AAF. Su objetivo es la optimización e individualización de la posología (dosis mínima eficaz) y es muy útil para el control de la sintomatología, la gestión del tratamiento y la evaluación de la adherencia (Spencer y Dubinsky, 2017). Además, permite la detección de falta de respuesta ya sea por la farmacocinética o por la farmacodinámica, el estudio de la inmunogenicidad y la toma de decisiones terapéuticas (intensificación/reducción de dosis o intervalo, adición de un inmunosupresor o cambio a biológico de la misma o distinta clase terapéutica) (figura 3 y 4) (Facchin et al., 2021; Rocha et al., 2019). A la hora de iniciar, suspender o modificar un tratamiento siguiendo un enfoque basado en la TDM es importante integrar a las concentraciones plasmáticas de fármaco o AAF obtenidas, los síntomas que presenta el paciente y los niveles de biomarcadores (Magro et al., 2017).

1.5.2. Puntos de corte de los fármacos biológicos para la TDM

Se han establecido puntos de corte para evaluar las concentraciones plasmáticas del fármaco que dan lugar a una respuesta terapéutica positiva en la EII (tabla I). La concentración objetivo varía entre los distintos biológicos y, a su vez, varía según el momento de la extracción, según el fenotipo de la enfermedad y según el objetivo terapéutico (remisión clínica vs curación de la mucosa) (Megna y Vaughn, 2022). Este rango terapéutico sugerido es objetivo y orientativo, es decir, no existe un punto de corte universal para alcanzar niveles óptimos de biológicos en sangre debido a su estrecho margen terapéutico y a la gran variabilidad farmacocinética interindividual (concentración sérica de albúmina, sexo, IMC...) (Merino y Sánchez, 2022). A pesar de ello, cuanto mayor sea la concentración sérica, mayor probabilidad de remisión clínica y endoscópica (Yarur et al., 2016). Por ejemplo, niveles altos de IFX están asociados a la curación de fístulas perianales en pacientes con EC (Yarur et al., 2017). Además, niveles bajos de fármaco aumentan el riesgo de aparición de AAF y enfermedad activa. Por consiguiente, a medida que nuestro objetivo se vuelva más ambicioso, mayor concentración será necesario alcanzar (Rocha et al., 2019).

En base a las estimaciones de parámetros farmacocinéticos y a los modelos poblacionales optimizados, los farmacéuticos de la Unidad de Farmacocinética clínica interpretan las concentraciones séricas del fármaco obtenidas y realizan recomendaciones (individualización posológica) con ayuda de esquemas prediseñados (figura 3 y 4) (Alañón et al., 2020). Este ajuste

de dosis en función de la concentración plasmática del biológico y de la clínica del paciente se asocia a mejores resultados endoscópicos y cicatrización de la mucosa (Nasser et al., 2018). Se trata de una herramienta muy valiosa teniendo en cuenta las pocas alternativas terapéuticas disponibles en caso de que fracase la terapia con anti-TNF α (Alañón et al., 2020). Además, la TDM supone un importante ahorro de los costes sanitarios sin impacto negativo en la eficacia clínica en comparación con el ajuste empírico de la dosis (Martelli et al., 2016; Papamichael et al., 2019; Pérez et al., 2018; Steenholdt et al., 2013b) ya que optimiza el uso de los agentes biológicos, los cuales son fármacos muy caros (Strik et al., 2016).

1.5.3. Actitud proactiva y reactiva

La TDM se puede realizar de forma reactiva o proactiva. Cuando se realiza por ausencia de respuesta a los fármacos biológicos durante un brote (fallo terapéutico) o por efectos adversos como artralgias, parestesias o infecciones recurrentes (sobre todo de las vías respiratorias superiores), hablamos de TDM reactiva. En cambio, cuando se realiza tras la respuesta al tratamiento de inducción y se repite durante el tratamiento de mantenimiento buscando la optimización de éste, hablamos de TDM proactiva (Megna y Vaughn, 2022). La mayoría de las interconsultas de TDM de terapias biológicas en pacientes con EII son proactivas y su principal finalidad es el control de la terapia de mantenimiento, la reducción del riesgo de efectos adversos o futuras recaídas, el ahorro de costes y la identificación de la causa de los fracasos terapéuticos incluso antes de que se manifiesten los síntomas clínicos. Por tanto, permite mejorar y anticipar las decisiones clínicas (Alañón et al., 2020).

1.5.4. Técnicas analíticas para la TDM

Se han desarrollado, validado y comercializado varias técnicas analíticas para la TDM de fármacos biológicos y se dividen en “drug-sensitive” y “drug-tolerant” (tabla II). Las principales técnicas “drug-sensitive” son el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la inmunocromatografía de flujo lateral (ICFL), el radioinmunoensayo (RIA) y el ensayo por quimioluminiscencia (CLIA). Son técnicas menos costosas, pero no detectan AAF en presencia de fármaco libre en la muestra de suero. En cuanto a las técnicas “drug-tolerant” destacan el ensayo de desplazamiento de movilidad homogénea (HMSA), el inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLISA), el ensayo de gen informador (RGA) y la cromatografía líquida con espectrometría de masas (LC-MS/MS). A diferencia de las primeras, estas técnicas permiten cuantificar AAF en presencia de fármaco libre gracias a un paso previo de disociación ácida. La elección de la técnica analítica es importante a la hora de interpretar los resultados obtenidos (Mitrev y Leong, 2017; Willrich et al., 2015).

De todas ellas, la técnica de referencia es ELISA, un ensayo sensible, específico y económico. Se trata de un enzimoimmunoanálisis de tipo sándwich: en una placa de 96 pocillos se fija un anticuerpo específico contra el antígeno que se quiere detectar (en este caso TNF α). A continuación, se añade la muestra de suero del paciente y se formarán conjugados antígeno-anticuerpo en caso de que esté presente el TNF α (unido al fármaco o al AAF). Tras un lavado se añade un segundo anticuerpo marcado con una enzima y dirigido contra el fármaco/AAF. Después de un segundo lavado se añade el sustrato sobre el que actúa la enzima. La aparición de un producto coloreado indica que la enzima está presente y, por tanto, el fármaco/AAF al que se ha unido también. Por último, se mide la intensidad del color obtenido mediante espectrofotometría para cuantificar el resultado (Tabatabaei y Ahmed, 2022).

El problema de ELISA es que requiere mucho tiempo (4-8 horas) y la acumulación de un número suficiente de muestras para que sea rentable, por lo que retrasa la obtención de los resultados y el ajuste terapéutico en función de la dosis objetivo. Para superar estas limitaciones se han desarrollado recientemente ensayos Point of Care (POC) que permiten la obtención de resultados en un tiempo breve (15-20 minutos), el análisis individual de las muestras y tienen una efectividad equivalente a la técnica de referencia (Curci et al., 2019; Novakovic et al., 2019; Rocha et al., 2019). Un ejemplo de ellos es el Quantum Blue[®], un inmunoensayo de flujo lateral de tipo sándwich utilizado para la TDM de IFX, anti-IFX, ADL y anti-ADL. La técnica consta de un casete de prueba en el que se introduce la muestra de suero diluida con un tampón de incubación (1:20). A continuación, la muestra migra a través de la membrana analítica, donde el TNF α presente en el suero se conjugará con coloides de oro del casete. El resultado es la aparición de una línea control (C) que corresponde al conjugado oro-TNF α libre. Existe una segunda línea, llamada línea de test (T), que contiene un anticuerpo monoclonal altamente específico del fármaco que se quiere cuantificar. En caso de que dicho fármaco esté presente, esta línea se colorea debido a que el anticuerpo previamente mencionado ha retenido el conjugado de oro-TNF α -fármaco. Si la prueba es positiva se mide cuantitativamente la intensidad de la señal de la línea de test mediante el Quantum Blue[®] Reader (Bühlmann, 2018). La única desventaja de esta técnica es que sólo detecta la presencia o no de los AAF (medida cualitativa), mientras que ELISA permite su cuantificación. En la tabla 3 podemos ver una síntesis de todas las ventajas que ofrece la prueba POC frente a ELISA.

Este estudio ofrece una comparación entre una técnica POC (Quantum Blue[®]) y la técnica de referencia ELISA mediante distintos métodos estadísticos para verificar si son equiparables dada la gran ventaja que supone la posibilidad de tomar decisiones fundamentadas inmediatas en la atención clínica.

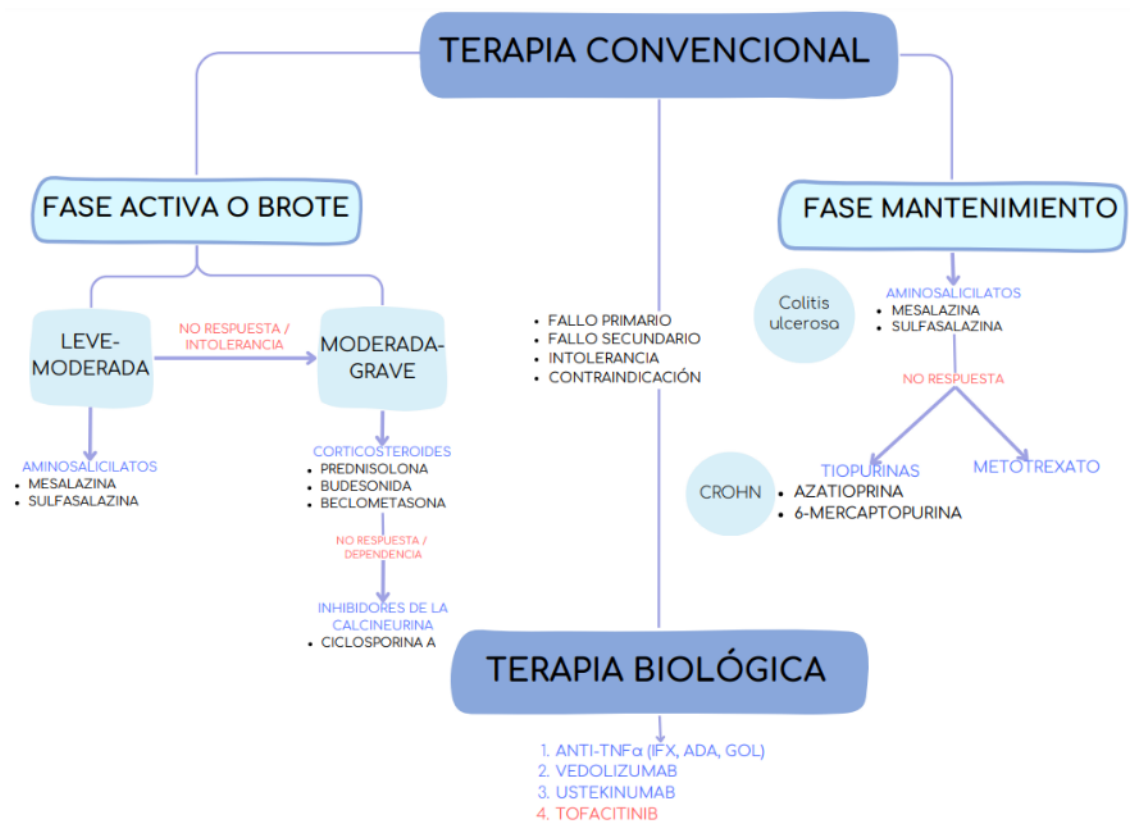


Figura 2. Algoritmo de tratamiento farmacológico en enfermedad inflamatoria intestinal.

Fuente: elaboración propia.

Tabla 1. Puntos de corte sugeridos de las concentraciones de fármacos biológicos en suero para alcanzar remisión o curación en la enfermedad inflamatoria intestinal.

Nota. Adaptado de la *Guía de práctica farmacéutica en enfermedad inflamatoria intestinal* (p.70) de la SEFH (Merino y Sánchez, 2022)

Fármaco biológico	Fase del tratamiento	Puntos de corte para alcanzar la respuesta o remisión (µg/mL)	Puntos de corte para la curación de la mucosa (µg/mL)
INFLIXIMAB	Inducción (semana 2)	≥ 20	≥ 25
	Inducción (semana 6)	≥ 16-18	*
	Fin de inducción (semana 14)	≥ 5	≥ 7
	Mantenimiento	≥ 3	≥ 7

ADALIMUMAB	Inducción (semana 4)	≥ 7	≥ 12
	Mantenimiento	≥ 5	≥ 8
GOLIMUMAB	Fin de inducción (semana 14)	≥ 2,5	*
	Mantenimiento	≥ 1	*
VEDOLIZUMAB	Inducción (semana 2)	≥ 28	*
	Inducción (semana 6)	≥ 20	*
	Fin de inducción (semana 14)	≥ 15	≥ 17
	Mantenimiento	≥ 12	≥ 14
USTEKINUMAB	Fin de inducción (semana 8)	≥ 3,5	≥ 7
	Mantenimiento	≥ 1	≥ 4,5

* Ausencia de información verificada.

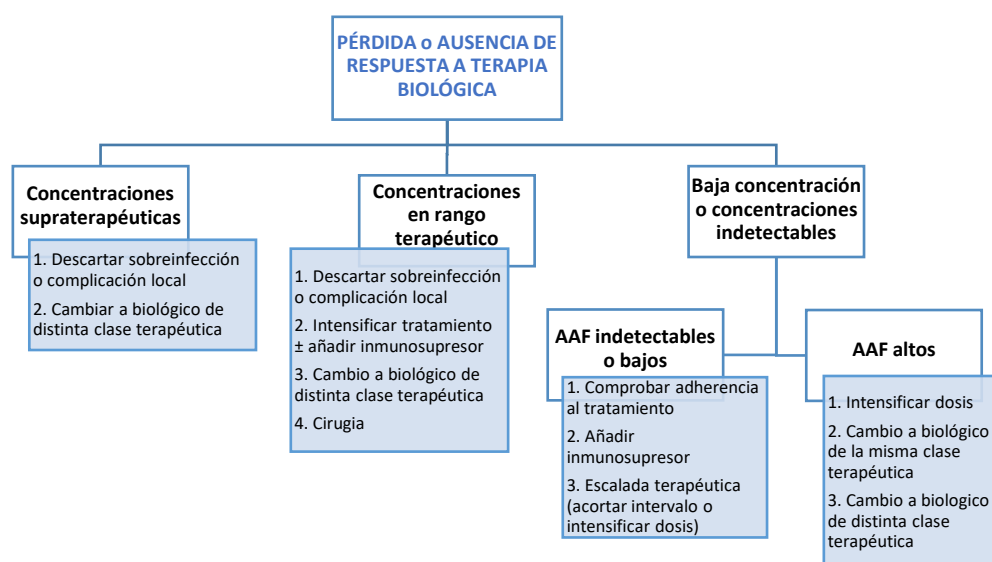


Figura 3. Algoritmo de interpretación de los resultados de la monitorización terapéutica de fármacos biológicos en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal siguiendo una actitud REACTIVA y en base a los valores recogidos en la tabla 1. AAF, anticuerpos anti-fármaco.

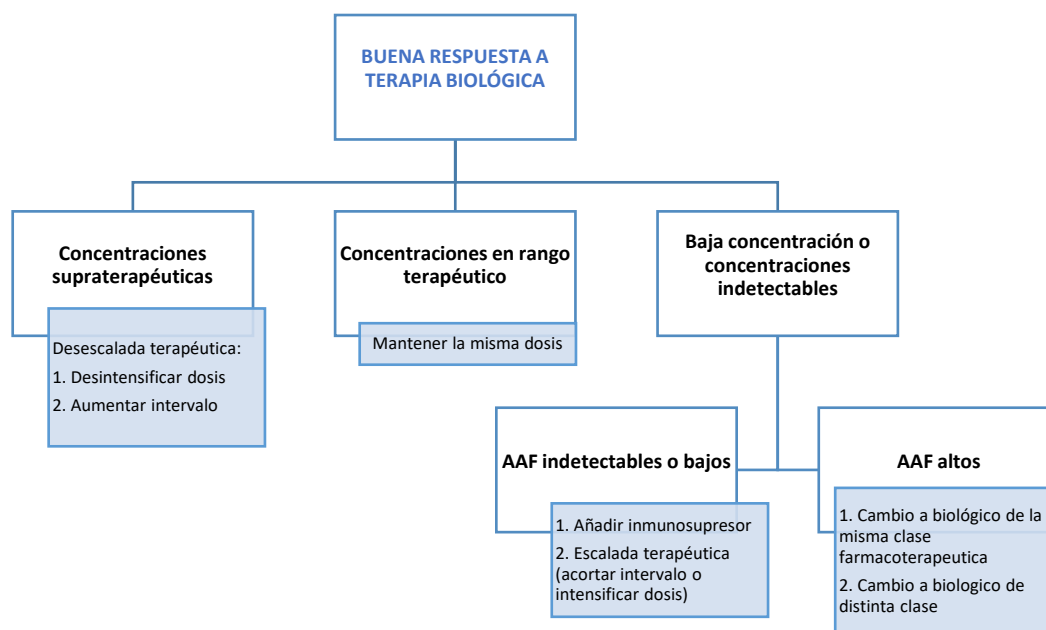


Figura 4. Algoritmo de interpretación de los resultados de la monitorización terapéutica de fármacos biológicos en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal siguiendo una actitud PROACTIVA y en base a los valores recogidos en la tabla 1. AAF, anticuerpos anti-fármaco.

Nota. Figuras 3 y 4 adaptadas de la “Guía de práctica farmacéutica en enfermedad inflamatoria intestinal” (p.83) de la SEFH (Merino y Sánchez, 2022) y de “Monitorización farmacocinética de terapias biológicas en enfermedad inflamatoria intestinal” (p.3) por Alañón et al., 2020.

Tabla 2: Tipos de ensayos para medir los niveles de fármaco biológico o anticuerpos anti-fármaco en sangre.

Nota. Adaptado de “Therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor- α agents in inflammatory bowel disease” (p.27) por Mitrev y Leong, 2017.

TÉCNICA	FUNDAMENTO	VENTAJAS	INCONVENIENTES
ELISA (sándwich)	Ensayo en fase sólida: la placa de pocillos se recubre con un anticuerpo específico del antígeno diana con el fármaco/AAF y se forman inmunocomplejos. El AAF de detección está unido a	Poco costoso, sencillo, específico, automatizado.	No detecta AAF en presencia de fármaco libre, no distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, límite de detección bajo por múltiples pasos de lavado, mayor tasa de

	<p>una enzima que producirá una reacción de color que se medirá por espectrofotometría.</p>		<p>falsos positivos y negativos.</p>
RIA	<p>La unión del antígeno diana y la detección del anticuerpo se producen en fase fluida. El anticuerpo de detección se marca con un radioisótopo emisor de radiación y que se medirá con un contador Geiger.</p>	<p>Más sensible, puede detectar concentraciones más bajas. Específica.</p>	<p>No detecta AAF en presencia de fármaco libre, no distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, compleja, requiere radioisótopos e instalaciones y personal especializados.</p>
CLIA	<p>El fármaco o AAF se captura a través de micropartículas magnéticas que se unirán a un conjugado marcado con éster de acridinio dando lugar a una emisión de luz visible.</p>	<p>Rápida, sencilla</p>	<p>No detecta AAF en presencia de fármaco libre, no distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, más caro que ELISA.</p>
ICFL	<p>Migración del fármaco o AAF a través de una membrana analítica con coloides de oro y con un anticuerpo monoclonal altamente específico inmovilizado formando conjugados que provocan una reacción de color que se medirá con un lector.</p>	<p>Rápida, sencilla, fácil uso.</p>	<p>No detecta AAF en presencia de fármaco libre, no distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, más caro que ELISA, solo detección cualitativa de AAF, requiere un lector específico.</p>

HMSA	<p>Ensayo en fase fluida con previa disociación ácida. En la muestra de suero, se agrega el fármaco anti-TNFα o el TNFα marcado con fluorescencia, en función de lo que se quiera medir: AAF o fármaco anti-TNFα, respectivamente. Los complejos que se forman se disocian y cuantifican utilizando la técnica de cromatografía líquida de alta resolución con exclusión de tamaños.</p>	<p>Más sensibles a concentraciones bajas, detectan AAF en presencia de fármaco libre.</p>	<p>No distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, análisis lento, más caros y complejos ya que requieren instalaciones y personal especializados.</p>
ECLISA	<p>Ensayo en fase fluida con previa disociación ácida. Se utiliza un AAF monoclonal unido a una micropartícula magnética para capturar al antígeno diana. Luego, esta micropartícula se unirá a un electrodo magnético. El antígeno se detectará con un segundo anticuerpo rutenilado que emite fotones tras la aplicación de un voltaje por parte del electrodo.</p>	<p>Más sensibles a concentraciones bajas, detectan AAF en presencia de fármaco libre.</p>	<p>No distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, más caros, requieren instalaciones y personal especializados.</p>

RGA	Se cultivan células funcionales que expresan receptores de TNF α vinculados a un gen informador y se añade el TNF α y el suero del paciente a la muestra. Se cuantifica directamente la actividad anti-TNF α en la muestra de suero midiendo la cantidad de interferencia en la unión de TNF α .	Distingue AAF neutralizantes y no neutralizantes, universal, rápido	Necesidad de cultivo de células vivas, complicados, caros, requieren instalaciones y personal especializados.
LC-MS/MS	Purificación y digestión de la muestra con tripsina y separación de péptido característico de IFX mediante cromatografía líquida en fase inversa seguida de espectrometría de masas utilizando un biosimilar de IFX marcado con isótopos estables como estándar interno.	Sensible, rentable y preciso.	Requiere la determinación de un estándar interno, tiempo de trabajo prolongado y laborioso.

Tabla 3: Ventajas de la prueba Quantum Blue® frente a los kits tradicionales ELISA. Fuente: elaboración propia.

	QUANTUM BLUE®	ELISA
Tiempo de respuesta	15-20 minutos	4-8 horas
Ajuste terapéutico	En la misma consulta	En la siguiente consulta
Procesamiento de las muestras	Individual	Por lote
Laboratorio	No requiere instalaciones específicas	Requiere instalaciones específicas
Personal	Poca experiencia	Altamente capacitado

2. OBJETIVOS

El objetivo principal es evaluar el rendimiento de una nueva técnica Point of care llamada Quantum Blue® mediante su comparación con la técnica de referencia ELISA para la monitorización terapéutica de dos fármacos biológicos anti-TNF α (Infliximab y Adalimumab) utilizados en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.

3. METODOLOGÍA

Es un estudio prospectivo, observacional y unicéntrico realizado en pacientes diagnosticados con EII (EC o CU) en tratamiento con IFX o ADL en fase de inducción (semana 6-14) o en fase de mantenimiento (a partir de la semana 14), desde enero de 2022 hasta marzo de 2023. El estudio se ha llevado a cabo en la unidad de farmacocinética clínica del servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla, España. Se recolectaron un total de 354 muestras de suero (217 de IFX y 137 de ADL) y los datos fueron registrados en formato electrónico (Microsoft Excel).

3.1. Procesamiento de las muestras de sangre

Las muestras de sangre venosa se recogen en tubos con gel separador y se toman justo antes de la administración de la siguiente dosis (concentraciones valle), cuando se espera que la concentración de fármaco sea mínima puesto que la evidencia disponible relaciona estos niveles con la eficacia (Mitrev y Leong, 2017). Una vez que llegan al laboratorio de farmacocinética se centrifugan durante 5 minutos a 3500 rpm, siempre en un tiempo inferior a 2 horas desde su extracción. Posteriormente se extrae el suero con una pipeta volumétrica y se transfiere a un tubo eppendorf. Las muestras obtenidas se almacenan a -20°C hasta su posterior análisis.

En todas estas muestras se cuantificaron los niveles de fármaco mediante ELISA (Promonitor® IFXv2 y Promonitor® ADLv2, de Progenika Biopharma, Derio, España) y el ensayo POC (Quantum Blue® Infliximab y Quantum Blue® Adalimumab, de BÜHLMANN Laboratories AG, Schönenbuch, Switzerland) siguiendo rigurosamente las instrucciones del fabricante.

Los kits Promonitor® IFXv2 y Promonitor® ADLv2 se utilizan para la TDM basada en la técnica de inmunoabsorción ligada a enzimas a través del analizador de ELISA *Triturus* (Grifols), el cual está totalmente automatizado. Los límites inferiores y superiores de cuantificación de fármaco en suero son 0,3 µg/mL y 21,6 µg/mL para IFX y 0,01 µg/mL y 24,4 µg/mL para ADL.

En cambio, los kits Quantum Blue® Infliximab y Quantum Blue® Adalimumab se usan para la TDM basada en la inmunocromatografía de flujo lateral *in vitro* y en formato monotest a través del analizador Quantum Blue® Reader. Este ensayo requiere una dilución previa del suero 1:20 con un tampón de incubación (20 µg de suero en 380 µg de tampón). A continuación, se toman 80 µg del suero diluido y se añaden al puerto de carga del cartucho o casete de prueba. Transcurridos 15 minutos de incubación, aparecerán dos líneas (control y de test) si el resultado es positivo o una sola línea (control) si el resultado es negativo. Para que el resultado de la prueba sea válido debe aparecer siempre la línea control (C). Por último, el Quantum Blue® Reader mide la intensidad de la línea de test y el resultado aparece en la pantalla del lector. Su rango de cuantificación de fármaco en suero es entre 0,4 µg/mL y 20 µg/mL para IFX y entre 1,3 µg/mL y 35 µg/mL para ADL.

3.2. Análisis estadísticos

Para evaluar la concordancia entre dos métodos analíticos y determinar si son equiparables son necesarios estudios que garanticen la precisión y fiabilidad de los resultados obtenidos. El paso inicial de estos estudios es el análisis de regresión, que es útil para calibrar una medición contra otra o para detectar sesgos entre dos métodos. En este caso, se ha utilizado la **regresión de Passing-Bablok**, un método válido para distribuciones paramétricas y no paramétricas de los resultados, que tolera valores atípicos puntuales, que no requiere cálculos ponderados y que se puede usar cuando ambos métodos estudiados incluyen errores aleatorios. La única desventaja es que requiere la realización de un análisis residual (Bahar et al., 2017; Passing y Bablok, 1983).

El segundo paso es el análisis de correlación mediante el **coeficiente de correlación de Pearson** (r), el cual oscila entre -1 y +1. Requiere una distribución normal y solo se puede interpretar si el valor de P es significativo. El nivel umbral de significación estadística se fijó en $P < 0,05$. Este análisis permite evaluar la relación lineal entre dos variables y su fuerza, siendo mayor cuanto más cerca esté el coeficiente de los extremos (± 1). El problema es que sólo evalúa la asociación

lineal entre dos medidas analíticas y no las diferencias, por lo que no evalúa la concordancia entre ambas y puede llevar a resultados engañosos. Por tanto, una alta correlación no implica que haya una buena concordancia entre los dos métodos (Bahar et al., 2017).

Por ello se recurre al **Bland-Altman**, un método de verificación fiable que permite la comparación cuantitativa de una nueva técnica analítica con la técnica estándar de referencia para su futura aplicación en la práctica médica con seguridad, validando así si este nuevo método es aceptable o no. Se trata de un método gráfico que permite cuantificar las diferencias entre dos métodos de medida a través de un diagrama de dispersión XY en el que se representa el promedio de las dos mediciones pareadas en el eje X $[(K1+K2) / 2]$ y las diferencias de las mismas en el eje Y $(K1-K2)$. Una vez obtenido el gráfico y con la ayuda de un software estadístico se cuantifica el sesgo medio $[\Sigma(K1-K2) / 2]$ y los límites de concordancia (LOA) superior e inferior entre las mediciones obtenidas por ambas técnicas $(media \pm 1,96*DE)$. Con la prueba t-Student se obtiene la desviación estándar (DE), necesaria para obtener los LOA. Los datos utilizados no deben sobrepasar ± 2 el valor de DE para asegurar un intervalo de confianza (IC) del 95%. Conforme más se acerquen los valores del sesgo medio a 0, mayor concordancia encontraremos entre los distintos métodos en comparación. Al igual que ocurre cuanto menor sea la dispersión de los puntos y más próxima se encuentre a la línea que representa el sesgo medio (Doğan, 2018).

Es requisito indispensable un tamaño de muestra adecuado y que las diferencias entre las variables de medición sigan una distribución normal para verificar la validez del método en estudio. Por un lado, se necesitó un tamaño de muestra de al menos 99 muestras de sangre para detectar un 15% de diferencia entre ambas pruebas considerando un $\alpha=0,05$, una potencia del 80% y una proporción media del 82,5%. Por otro lado, las variables continuas se han descrito utilizando la mediana y el rango intercuartílico (IQR). Asimismo, para comprobar la distribución normal de se han representado los datos gráficamente a través de un histograma.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el lenguaje de programación R a través de RStudio®, versión 4.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) y del sitio web [Method Comparison \(shinyapps.io\)](https://shinyapps.io/method-comparison/) (Bahar et al., 2017). Por motivos estadísticos, hemos considerado que todas las muestras con valores que sobrepasaban el límite superior de detección en Quantum Blue® y ELISA tenían una concentración de 20 $\mu\text{g/mL}$ y 21,6 $\mu\text{g/mL}$ para IFX y de 35 $\mu\text{g/mL}$ y 24,4 $\mu\text{g/mL}$ para ADL, respectivamente. En caso de que los valores no llegaran a la concentración mínima necesaria para el límite de detección inferior, se han definido para la prueba POC y el método de referencia las siguientes concentraciones: 1,3 $\mu\text{g/mL}$ y 0

$\mu\text{g/mL}$ para ADL, respectivamente y $0 \mu\text{g/mL}$ para IFX en ambos métodos. Esto podría afectar a los resultados analíticos, pero no debería tener un impacto negativo en la toma de decisiones clínicas dado que los límites de detección se encuentran alejados de la ventana terapéutica (Afonso et al., 2016).

Para evaluar el grado de concordancia cualitativa se utilizó el coeficiente kappa ponderado tras la estratificación de los pacientes en tres intervalos terapéuticos en función de los resultados: subterapéuticos ($<3 \mu\text{g/mL}$ para IFX y $<5 \mu\text{g/mL}$ para ADL), terapéuticos ($3-8 \mu\text{g/mL}$ para IFX y $5-12 \mu\text{g/mL}$ para ADL) y supraterapéuticos ($>8 \mu\text{g/mL}$ para IFX y $>12 \mu\text{g/mL}$ para ADL). Para estratificar ambos fármacos se han seguido algoritmos propuestos en investigaciones previas donde se declara, basándose en la evidencia actual para la terapia anti-TNF α guiada por TDM en la EII, que las concentraciones mínimas para alcanzar remisión clínica a través de IFX y ADL se sitúan entre $3-8$ y $5-12 \mu\text{g/mL}$, respectivamente (Cheifetz et al., 2021; Mitrev et al., 2017; Valdés et al., 2020). Estos intervalos se consideran una ventana terapéutica óptima durante la fase de mantenimiento.

4. RESULTADOS

4.1. Infliximab

4.1.1. Análisis de regresión Passing-Bablok

Se evaluaron 217 muestras de sangre de pacientes en tratamiento con IFX. La correlación entre las concentraciones de IFX medidas por POC y ELISA fue alta ($r=0,867$; $P<0,001$; IC 95% = $0,830-0,897$), por lo que hay una fuerte relación entre los valores obtenidos por ambos métodos, pero esto no es sinónimo de concordancia entre ambos. La recta de regresión según el análisis de Passing-Bablok fue $y=1,26x$ (figura 5) y la pendiente indica que Quantum Blue[®] sobrestima en comparación con ELISA.

4.1.2. Análisis gráfico Bland-Altman

La concentración mediana global de IFX fue de $6,76$ (IQR: $11,30-4,07$) $\mu\text{g/mL}$ utilizando la prueba ELISA y de $9,00$ (IQR: $15,30-5,20$) $\mu\text{g/mL}$ con la prueba POC.

El gráfico de Bland-Altman mostró que la diferencia (sesgo o bias) de concentración media de los niveles de IFX entre la prueba POC y ELISA fue de $-2,27 \mu\text{g/mL}$ ($P<0,001$), lo que significa que Quantum Blue[®] mide en promedio $2,27$ unidades más que ELISA (figura 6). Aunque la prueba POC tendió a sobrestimar ligeramente la concentración de IFX para valores superiores a 15

$\mu\text{g/mL}$ en ELISA, las diferencias entre ambos ensayos fueron mínimas para concentraciones por debajo de dicho valor (rango terapéutico y subterapéutico).

En general, hubo pocos valores fuera de los LOA (todos ellos con niveles superiores a $8 \mu\text{g/mL}$) y la mayoría se distribuyeron ampliamente en todo el rango de concentraciones. Además, se puede observar una tendencia negativa de las diferencias conforme aumenta la magnitud de la variable medida.

La distribución normal de los datos se ha verificado gráficamente mediante un histograma (figura 7).

4.1.3. Coeficiente kappa

Las muestras se estratificaron por intervalos terapéuticos de IFX. La distribución de las muestras según la concordancia entre ambos ensayos se muestra en la tabla 4. Los resultados del método POC coincidieron en general con los resultados de la prueba ELISA en el 78,8% (171/217) de los pacientes. En aquellos pacientes con niveles de IFX en sangre $< 3 \mu\text{g/mL}$ se observó un acuerdo del 78,9% (30/38), en muestras con niveles de fármaco entre $3\text{-}8 \mu\text{g/mL}$ el nivel de concordancia fue del 60,2% (56/93) y en pacientes con niveles de IFX $> 8 \mu\text{g/mL}$ se alcanzó un 98,8% (85/86). El valor kappa fue de 0,72, lo que indica una concordancia substancial entre las técnicas según la escala de valoración del índice K propuesta por Landis y Koch en 1977.

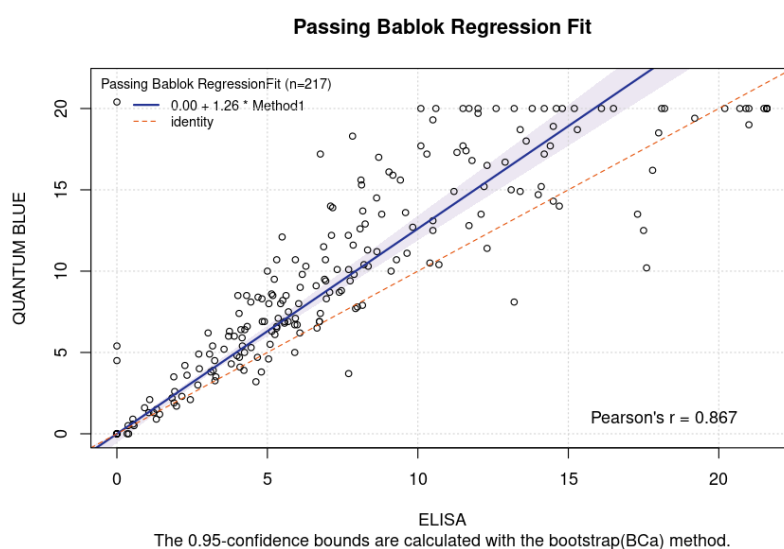


Figura 5. Correlación entre las concentraciones de IFX ($\mu\text{g/mL}$) medidas con Quantum Blue® Infliximab (POC) y Promonitor® IFXv2 (ELISA) a través del análisis de regresión Passing-Bablok. La línea discontinua roja representa la línea de identidad ($y=x$) y la línea continua azul corresponde a la curva de regresión ($y=1,26x$). La banda sombreada en gris equivale a los intervalos de confianza del 95%. Coeficiente de correlación de Pearson $r=0,867$, $P<0,001$, IC 95% = $0,830\text{-}0,897$. Fuente: elaboración propia.

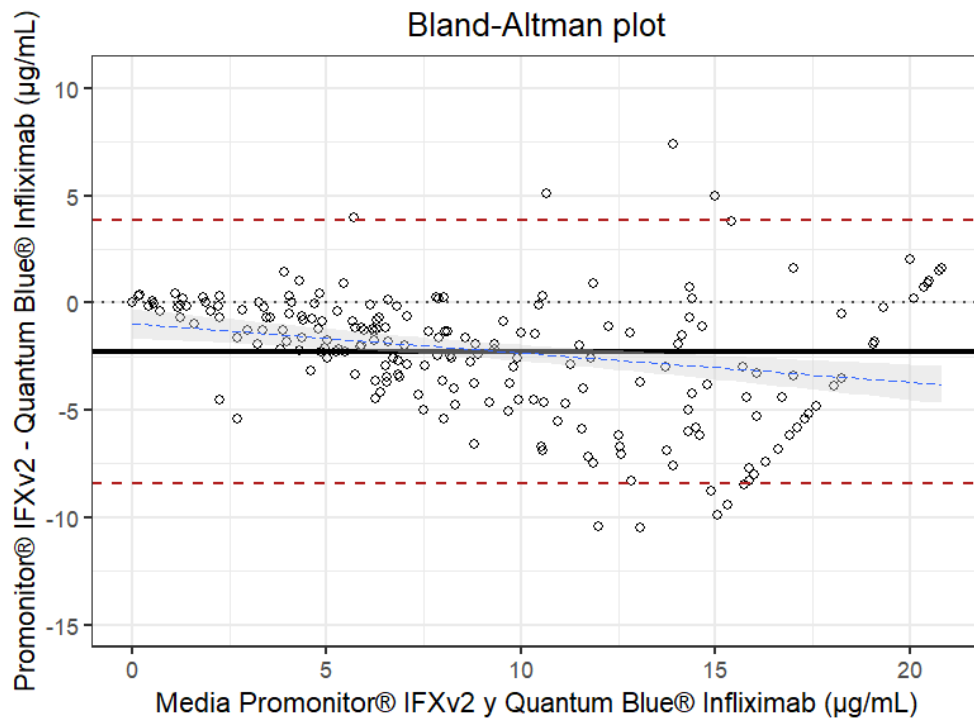


Figura 6. Gráfica de Bland-Altman de la diferencia absoluta de las concentraciones de IFX (µg/mL) medidas con Quantum Blue® Infiximab (POC) y Promonitor® IFXv2 (ELISA) frente a la concentración media de IFX. Las líneas discontinuas rojas representan los límites inferior (-8,41 µg/mL) y superior (3,86 µg/mL) de concordancia. La línea continua negra equivale a la diferencia media de IFX (-2,27 µg/mL) entre ambos métodos. La línea discontinua azul sombreada muestra la tendencia de las diferencias a medida que aumenta la magnitud de la variable medida. Fuente: elaboración propia.

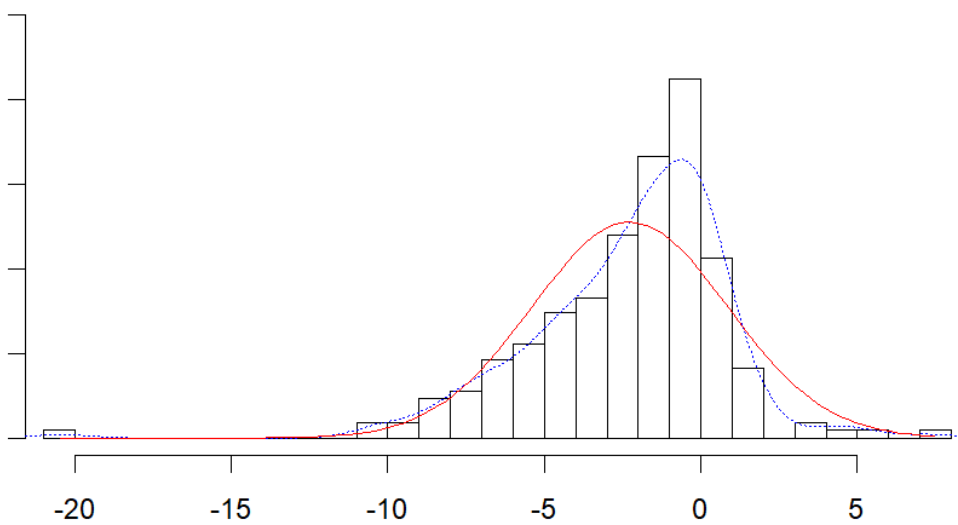


Figura 7. Histograma con los datos de IFX obtenidos con ambas técnicas que muestra una distribución normal de los mismos. Fuente: elaboración propia.

Tabla 4: Distribución de las muestras según la concordancia entre Quantum Blue® Infiximab (POC) y Promonitor® IFXv2 (ELISA) tras la estratificación de los niveles de infliximab por intervalos terapéuticos (< 3 µg/mL; 3-8 µg/mL; > 8 µg/mL). Fuente: elaboración propia.

Quantum Blue® Infiximab (POC)	Promonitor® IFXv2 (ELISA)			Total
	<3 µg/mL	3-8 µg/mL	>8 µg/mL	
<3 µg/mL	30	0	0	30
3-8 µg/mL	7	56	1	64
>8 µg/mL	1	37	85	123
Total	38	93	86	217

4.2. Adalimumab

4.2.1. Análisis de regresión Passing-Bablok

Se evaluaron 137 muestras de sangre de pacientes en tratamiento con ADL. La prueba POC mostró una alta correlación con ELISA ($r=0,853$; $P<0,001$; IC 95% = 0,800-0,893), por lo que hay una fuerte relación entre las concentraciones pareadas de ADL obtenidas por ambos métodos. El análisis Passing-Bablok reveló una pendiente de 1,28 y una intersección de -1,16 ($y=1,28x-1,16$), lo que significa que el método Quantum Blue® sobrestima en comparación con el método de referencia (figura 8).

4.2.2. Análisis gráfico Bland-Altman

La concentración mediana global de ADL fue de 9,60 (IQR: 12,40-6,40) µg/mL utilizando la prueba ELISA y de 10,80 (IQR: 15,90-6,90) µg/mL con la prueba POC.

El análisis de Bland-Altman mostró que el sesgo medio entre Promonitor® ADLv2 y Quantum Blue® Adalimumab fue de -1,91 µg/mL ($P < 0,001$), por lo que la prueba POC mide en promedio 1,91 unidades más que la técnica ELISA (figura 9). Además, en el gráfico se puede observar que las diferencias son cercanas a 0 en las concentraciones de ADL dentro del rango terapéutico (5-12 µg/mL) y van creciendo conforme aumenta la concentración (supraterapéutica). En general, hubo pocos valores fuera del IC del 95% y la mayoría con concentraciones superiores a 12 µg/mL (7/9).

La distribución normal de los datos se ha verificado gráficamente mediante un histograma (figura 10).

4.2.3. Coeficiente kappa

Al categorizar las muestras en base a puntos de corte terapéuticos de ADL, el valor kappa fue de 0,81, lo que indica una concordancia casi perfecta entre las técnicas (Landis y Koch, 1977). La distribución de las muestras según la concordancia entre la prueba POC y ELISA se muestra en la tabla 5. En aquellos pacientes con niveles de ADL en sangre $< 5 \mu\text{g/mL}$ se alcanzó un acuerdo del 92,3% (24/26), en muestras con niveles de $5\text{-}12 \mu\text{g/mL}$ el nivel de concordancia fue del 60,9% (14/23) y en pacientes con niveles de fármaco $> 12 \mu\text{g/mL}$ se alcanzó un 94,3% (83/88). Los resultados de ambos métodos coincidieron en el 88,3% (121/137) de los pacientes.

En la tabla 6 se han recogido todos los resultados derivados de los análisis estadísticos realizados en este estudio.

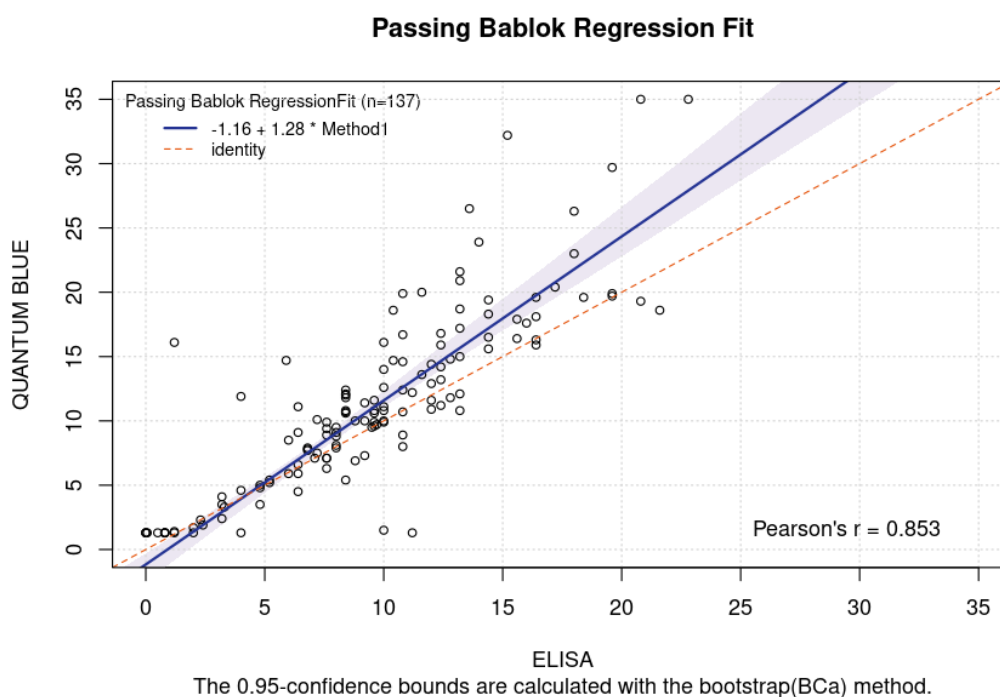


Figura 8. Correlación entre las concentraciones de ADL ($\mu\text{g/mL}$) medidas con Quantum Blue[®] Adalimumab (POC) y Promonitor[®] ADLv2 (ELISA) a través del análisis de regresión Passing-Bablok. La línea discontinua roja representa la línea de identidad ($y=x$) y la línea continua azul corresponde a la curva de regresión ($y=1,28x-1,16$). La banda sombreada en gris equivale a los intervalos de confianza del 95%. Coeficiente de correlación de Pearson, $r=0,853$, $P<0,001$, IC 95% = 0,800-0,893. Fuente: elaboración propia.

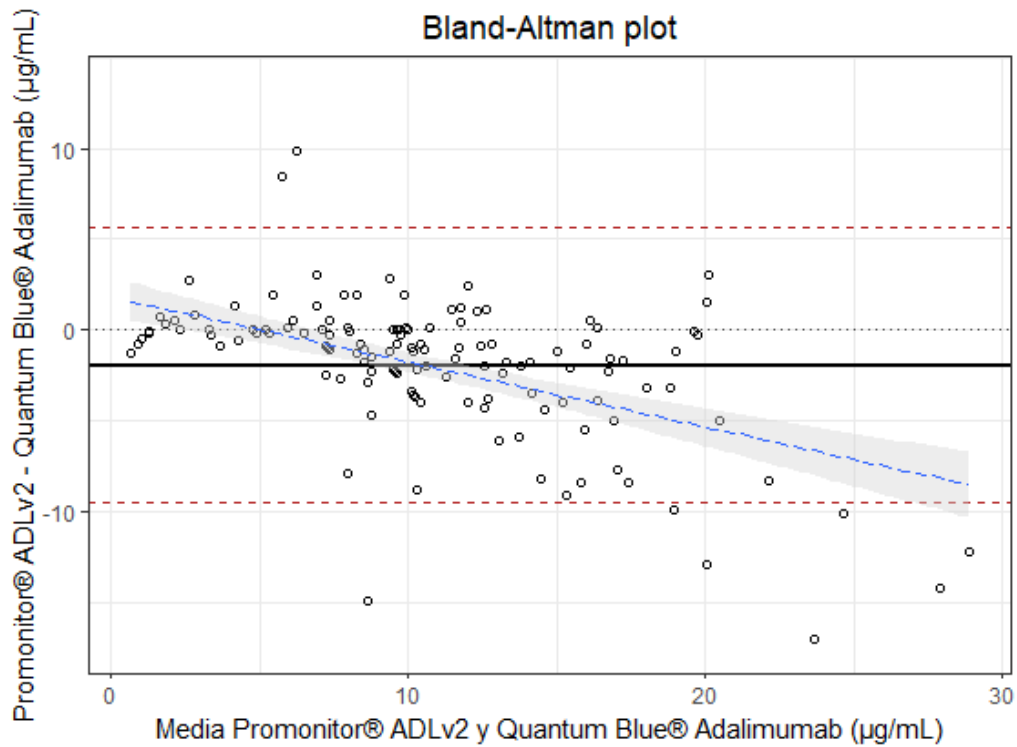


Figura 9. Gráfica de Bland-Altman de la diferencia absoluta de las concentraciones de ADL ($\mu\text{g/mL}$) medidas con Quantum Blue® Adalimumab (POC) y Promonitor® ADLv2 (ELISA) frente a la concentración media de adalimumab. Las líneas discontinuas rojas representan los límites inferior ($-9,46 \mu\text{g/mL}$) y superior ($5,63 \mu\text{g/mL}$) de concordancia. La línea continua negra equivale a la diferencia media de infliximab ($-1,91 \mu\text{g/mL}$) entre ambos métodos. La línea discontinua azul sombreada muestra la tendencia de las diferencias a medida que aumenta la magnitud de la variable medida. Fuente: elaboración propia.

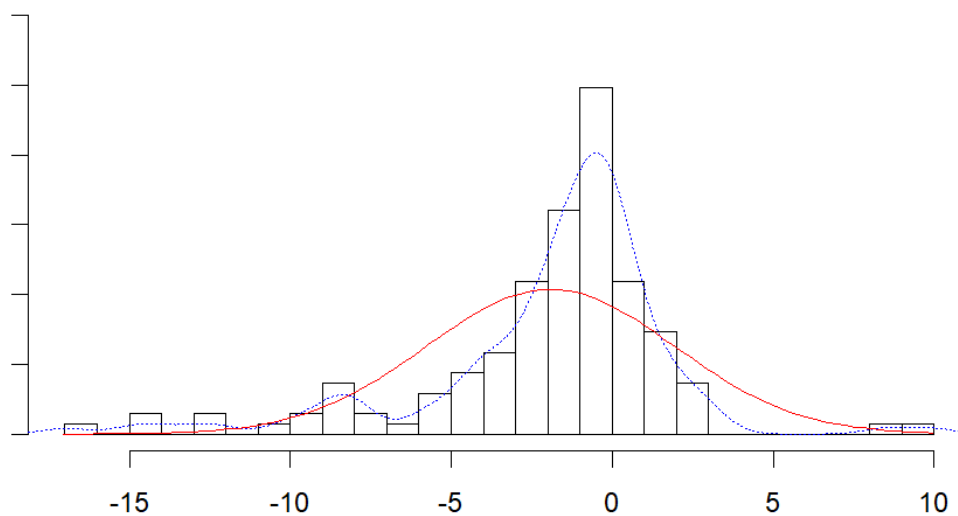


Figura 10. Histograma con los datos de ADL obtenidos con ambas técnicas que muestra una distribución normal de los mismos. Fuente: elaboración propia.

Tabla 5: Distribución de las muestras según la concordancia entre Quantum Blue® Adalimumab (POC) y Promonitor® ADLv2 (ELISA) tras la estratificación de los niveles de ADL por intervalos terapéuticos (< 5 µg/mL; 5-12 µg/mL; > 12 µg/mL). Fuente: elaboración propia.

Quantum Blue® Adalimumab (POC)	Promonitor® ADLv2 (ELISA)			Total
	<5 µg/mL	5-12 µg/mL	>12 µg/mL	
<5 µg/mL	24	3	0	27
5-12 µg/mL	1	52	3	56
>12 µg/mL	1	15	38	54
Total	26	70	41	137

Tabla 6: Tabla resumen de los parámetros estadísticos calculados. Fuente: elaboración propia.

PARÁMETRO	INFLIXIMAB	ADALIMUMAB
Tamaño de muestra	217	137
Media Promonitor®	7,80	9,51
Media Quantum Blue®	10,07	11,42
Coefficiente de Pearson (r)	0,867	0,853
Bias	-2,27	-1,91
Desviación estándar (DE)	3,13	3,85
LOA superior	3,86	5,63
LOA inferior	-8,41	-9,46
Kappa	0,72	0,81
Concordancia cualitativa	78,80%	88,32%

5. DISCUSIÓN

La TDM surge como una estrategia clínica para optimizar la eficacia, la seguridad y el coste de los tratamientos. El reciente desarrollo de técnicas POC para cuantificar niveles de IFX, ADL, anti-IFX y anti-ADL permite tomar decisiones informadas en tiempo real, por lo que perfecciona esta

estrategia. La prueba POC tiene muchas ventajas frente a la prueba ELISA comúnmente utilizada ya que su tiempo de respuesta es de 15-20 minutos, lo que favorece un ajuste de dosis casi inmediato (en caso de que sea necesario). De esta forma mejoraría la atención al paciente ya que permitiría optimizar rápidamente su tratamiento dentro de la misma visita al hospital. Adicionalmente, es una técnica diseñada para cuantificar individualmente los niveles de IFX o ADL de cada muestra de forma eficaz, por lo que sería rentable para un número limitado de pacientes o para muestras a demanda y permitiría terapias individualizadas. Otra ventaja más es su facilidad de operación al ser un dispositivo monotest que no requiere instalaciones de laboratorio específicas ni un personal altamente cualificado. En contraposición a todo esto tenemos el kit de cuantificación ELISA. A pesar de ser el que se usa habitualmente, se trata de una técnica que consume mucho tiempo y retrasa la entrega de los resultados de 4-8 horas. Esto demora la toma de decisiones terapéuticas a la siguiente consulta o infusión del paciente (generalmente de 6-8 semanas después). Además, solo permite el procesamiento de muestras por lotes porque el análisis de muestras individual no es rentable al tener un formato de ensayo formado por 96 pocillos. Todo ello supone un retraso técnico adicional e impide una intervención en tiempo real. Adicionalmente, no podemos olvidar que requiere instalaciones de laboratorio y personal debidamente capacitado para su manejo (tabla 3) (Curci et al., 2019; Facchin et al., 2021; Novakovic et al., 2019; Rocha et al., 2019; Ruiz-Argüello et al., 2022).

Para poder implementar estos ensayos rápidos es necesario asegurar la sensibilidad y especificidad de la técnica y, sobre todo, comprobar su compatibilidad y concordancia con ensayos ya validados y usados en la práctica. En este estudio se han comparado dichos ensayos POC con los kits ELISA tradicionales mediante distintos análisis estadísticos.

La correlación entre las técnicas ha sido alta tanto para IFX ($r=0,867$) como para ADL ($r=0,853$), lo que es lógico al ser métodos diseñados para medir la misma variable. Esto demuestra que la prueba POC es fiable para determinar los niveles de ambos fármacos en muestras de sangre de pacientes con EI en la práctica clínica. Estos niveles de correlación coinciden con los resultados obtenidos en estudios previos que compararon los ensayos POC y ELISA (Afonso et al., 2016; Curci et al., 2019; Magro et al., 2017; Nasser et al., 2018; Novakovic et al., 2019; Pérez et al., 2018; Rocha et al., 2019; Ruiz-Argüello et al., 2022; Steenholdt et al., 2016; Van den Bossche et al., 2018).

Los resultados de este estudio también han mostrado un alto grado de concordancia cuantitativa y cualitativa entre ambas pruebas y para ambos fármacos, aunque existen variaciones sistemáticas.

Por un lado, en los niveles de IFX se puede observar que Quantum Blue® mide, en promedio, 2,27 unidades más que ELISA. Estas diferencias fueron notables en concentraciones superiores a 8 µg/mL. En cambio, en los rangos terapéutico y subterapéutico observamos una buena dispersión y una mayor concordancia. Esta similitud a bajas concentraciones es relevante ya que los niveles por debajo del umbral terapéutico asociado a remisión (< 3 µg/mL) representan el intervalo más interesante desde un punto de vista clínico. En la literatura, se ha establecido de forma evidente que estos niveles mínimos bajos de fármaco (< 3 µg/mL para IFX y < 5 µg/mL para ADL) están asociados a la falta de respuesta al tratamiento, al aumento de las recaídas y a un mayor riesgo de colectomía. Asimismo, la presencia de AAF es inversamente proporcional a los niveles de concentraciones plasmáticas de fármaco, es decir, niveles altos de AAF suponen bajas concentraciones séricas de IFX o ADL. Por tanto, la aparición de AAF puede llevar a niveles subterapéuticos ineficaces, contribuyendo así a la pérdida de respuesta (Brandse et al., 2016; Novakovic et al., 2019; Roblin et al., 2014; Rocha et al., 2019). En cambio, niveles mínimos altos de fármaco (> 8 µg/mL para IFX y > 12 µg/mL para ADL) se asocian con una futura respuesta al tratamiento, con una mejoría o remisión clínica y endoscópica y con un menor riesgo de colectomía. En resumen, suponen mejores resultados terapéuticos (Facchin et al., 2021; Papamichael et al., 2022; Seow et al., 2009; Steenholdt et al., 2010).

En adición a lo anterior, el sesgo medio indica que la prueba POC sobrestima ligeramente en comparación con la técnica de referencia. Estos niveles más altos de IFX obtenidos con los ensayos POC en contraposición a ELISA están en línea con los resultados obtenidos por estudios anteriores (Curci et al., 2019; Nasser et al., 2018; Novakovic et al., 2019; Van den Bossche et al., 2018). No obstante, también se han notificado estudios con resultados opuestos en los que Quantum Blue® subestima en comparación con ELISA (Afonso et al., 2016; Magro et al., 2017).

Por otro lado, en los niveles de ADL la prueba POC mide, en promedio, 1,91 unidades más que ELISA. Sin embargo, estos niveles aparecen muy por encima del intervalo terapéutico, tal y como se muestra en la figura 9. Por tanto, como ocurría en el caso de IFX, el método Quantum Blue® sobrestima en comparación con ELISA, sobre todo a concentraciones superiores a 12 µg/mL. Este aumento de la dispersión conforme aumentan los niveles de ADL era de esperar teniendo en cuenta resultados de estudios previos (Laserna-Mendieta et al., 2019). Aun así, existen otras investigaciones en las que la prueba POC subestima los valores obtenidos por ELISA de referencia (Rocha et al., 2019).

Al comparar dos o más ensayos de cuantificación, ya sea de IFX o de ADL, es común la aparición de estas variaciones sistemáticas. Esto puede deberse al uso de anticuerpos distintos con

diferentes afinidades hacia el fármaco en función de la técnica empleada. A pesar de ello, los ensayos muestran resultados comparables y consistentes entre sí (Bossche et al., 2019; Magro et al., 2017).

Para garantizar la precisión y exactitud de un nuevo método es imprescindible su concordancia cualitativa con el método de referencia, sobre todo en la práctica clínica, ya que la posología de elección para un paciente se basará en la concentración obtenida por el instrumento de medida (Carrasco y Jover, 2004). En este estudio, los niveles de IFX medidos por el método POC y la prueba ELISA llevaron en un 78,8% a la misma decisión clínica cuando se basaba únicamente en la concentración de fármaco en sangre. En el caso de ADL, esta coincidencia fue del 88,3%. Esto indica que la mayoría de las muestras pareadas se clasificaron en el mismo rango de intervalo terapéutico, lo cual es de gran importancia en términos de efectividad de la TDM. Por el contrario, del total de muestras que se consideraron dentro de la ventana terapéutica cuando se cuantificaron con Quantum Blue®, un 12,5% de las muestras de pacientes en tratamiento con IFX y un 7,1% de las muestras de ADL, en realidad se ubicaban por debajo o por encima de esta ventana cuando se midieron con ELISA. De igual modo, un 30,9% de las muestras de IFX y un 29,6% de las muestras de ADL que se clasificaron por encima del rango óptimo para alcanzar remisión clínica cuando se procesaron con el método POC, realmente se encontraban dentro o por debajo del mismo al cuantificarse con la técnica ELISA. Aunque estos porcentajes puedan parecer significativos, recordamos que las decisiones terapéuticas no se toman únicamente en base a la concentración plasmática, sino que también se tiene en cuenta la situación clínica del paciente (Afonso et al., 2016). Además, recalcando que el intervalo subterapéutico es el más interesante, la concordancia para niveles mínimos bajos de IFX y ADL ha sido muy elevada (100% y 88,9%, respectivamente). En definitiva, la prueba POC determina con buena precisión las concentraciones séricas de IFX y ADL en contraste con la técnica ELISA, especialmente para niveles bajos. Sin embargo, se recomienda realizar todo el seguimiento de un paciente con un mismo ensayo debido a la variabilidad observada entre las distintas técnicas de cuantificación (Nasser et al., 2018; Pérez et al., 2018; Steenholdt et al., 2013a).

Otro dato que corrobora la alta concordancia cualitativa entre los ensayos es el valor kappa obtenido, el cual indica que el grado de acuerdo entre la prueba POC y ELISA fue substancial en el caso de IFX (0,72) y casi perfecta para ADL (0,81).

A la hora de realizar el estudio, se han detectado varias limitaciones. En primer lugar, el estudio fue unicéntrico, por lo que se realiza en un número pequeño de pacientes y la representatividad será menor (es más difícil demostrar diferencias entre los métodos). Además, esto limita la

validez externa y la calidad y relevancia científica (Aveiro et al., 2018). A pesar de ello, se ha estudiado un número representativo de muestras (354) que incluyen una amplia diversidad de concentraciones. En segundo lugar, no se tuvo en cuenta la presencia de AAF, los cuales podrían interferir en la medición de IFX y ADL. Sin embargo, ambas técnicas utilizadas en este estudio son “drug sensitive”, al igual que las técnicas utilizadas para establecer los rangos terapéuticos que hemos considerado. Por tanto, si solo se miden concentraciones de fármaco libre, la presencia de AAF no debería influir en las mediciones. En tercer y último lugar, no se han tenido en cuenta las características de rendimiento analítico del ensayo Quantum Blue® dado que nuestro objetivo principal era comparar dicho ensayo con la técnica de referencia para evaluar si eran equiparables. En cualquier caso, dicho rendimiento ha sido ampliamente estudiado por el fabricante y viene especificado en los manuales de Quantum Blue® Infliximab y Quantum Blue® Adalimumab.

6. CONCLUSIONES

En conclusión, la prueba POC Quantum Blue® se trata de una técnica de cuantificación rápida y fiable de los niveles de IFX y ADL con resultados precisos y comparables a los obtenidos con la técnica de referencia basada en la inmunoabsorción ligada a enzimas. Por tanto, supone una alternativa confiable a los kits tradicionales ELISA que aumenta la efectividad de la TDM y la posibilidad de implementar un ajuste de dosis proactivo y rentable.

7. AGRADECIMIENTOS

Vicente Merino Bohórquez y María Romero González son reconocidos por el apoyo editorial en la redacción de este escrito. María José Tirado Pérez es reconocida por el apoyo en el procesamiento de las muestras de sangre.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Afonso J, Lopes S, Gonçalves R, Caldeira P, Lago P, Tavares de Sousa H, et al. Proactive therapeutic drug monitoring of infliximab: a comparative study of a new point-of-care quantitative test with two established ELISA assays. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;44:684–92. <https://doi.org/10.1111/apt.13757>.
2. Alañón M, Roncero O, Bernardos E, Legaz M, Moreno M, Valenzuela J. Monitorización farmacocinética de terapias biológicas en enfermedad inflamatoria intestinal. *OFIL-ILAPHAR* 2020; 1-9.

3. Almradi A, Hanzel J, Sedano R, Parker CE, Feagan BG, Ma C, et al. Clinical Trials of IL-12/IL-23 Inhibitors in Inflammatory Bowel Disease. *BioDrugs* 2020;34:713–21. <https://doi.org/10.1007/s40259-020-00451-w>.
4. Aveiro TR, Escobar J, Rotela V. Proyectos multicéntricos: oportunidad de investigación internacional en el pre-grado *Educ Med* 2018;19(5):316-318.
5. Baert F, Noman M, Vermeire S, Van Assche G, D' Haens G, Carbonez A, et al. Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn's disease. *N Engl J Med* 2003;348:601–8. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa020888>.
6. Bahar B, Tuncel AF, Holmes EW, Holmes DT. An interactive website for analytical method comparison and bias estimation. *Clinical Biochemistry* 2017;50:1025–9. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2017.08.008>.
7. Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *The Lancet* 2007;369:1641–57. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)60751-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)60751-X).
8. Ben-Horin S, Kopylov U, Chowers Y. Optimizing anti-TNF treatments in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev* 2013;13:24–30. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.06.002>.
9. Bhattacharya A, Osterman MT. Biologic Therapy for Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Clin North Am* 2020;49:717–29. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2020.08.002>.
10. Billiet T, Rutgeerts P, Ferrante M, Van Assche G, Vermeire S. Targeting TNF- α for the treatment of inflammatory bowel disease. *Expert Opin Biol Ther* 2014;14:75–101. <https://doi.org/10.1517/14712598.2014.858695>.
11. Bradley J. TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology* 2008;214:149–60. <https://doi.org/10.1002/path.2287>.
12. Brandse JF, Mathôt RA, van der Kleij D, Rispens T, Ashruf Y, Jansen JM, et al. Pharmacokinetic Features and Presence of Antidrug Antibodies Associate With Response to Infliximab Induction Therapy in Patients With Moderate to Severe Ulcerative Colitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016;14:251–8. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.10.029>.
13. Bühlmann. Quantum Blue® Infliximab. Schönenbuch, Switzerland: BÜHLMANN Laboratories AG; 2018. Versión A1.
14. Cai Z, Wang S, Li J. Treatment of Inflammatory Bowel Disease: A Comprehensive Review. *Front Med (Lausanne)* 2021;8:765474. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.765474>.
15. Carrasco JL, Jover L. Métodos estadísticos para evaluar la concordancia. *Med Clin (Barc)* 2004;122:28–34.
16. Castele NV, Ferrante M, Assche GV, Ballet V, Compernelle G, Steen KV, et al. Trough Concentrations of Infliximab Guide Dosing for Patients With Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterology* 2015;148:1320-1329.e3. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.02.031>.
17. Cheifetz AS, Abreu MT, Afif W, Cross RK, Dubinsky MC, Loftus EV, et al. A Comprehensive Literature Review and Expert Consensus Statement on Therapeutic Drug Monitoring of Biologics in Inflammatory Bowel Disease. *Am J Gastroenterol* 2021;116:2014–25. <https://doi.org/10.14309/ajg.0000000000001396>.

18. Colombel JF, Sandborn WJ, Reinisch W, Mantzaris GJ, Kornbluth A, Rachmilewitz D, et al. Infliximab, azathioprine, or combination therapy for Crohn's disease. *N Engl J Med* 2010;362:1383–95. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0904492>.
19. Curci D, Lucafò M, Cifù A, Bramuzzo M, Martelossi S, Favretto D, et al. Determination of Serum Infliximab Concentration by Point-of-care Devices in Children With Inflammatory Bowel Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2019;69:474–9. <https://doi.org/10.1097/MPG.0000000000002410>.
20. Danese S, D'Amico F, Bonovas S, Peyrin-Biroulet L. Positioning Tofacitinib in the Treatment Algorithm of Moderate to Severe Ulcerative Colitis. *Inflammatory Bowel Diseases* 2018;24:2106–12. <https://doi.org/10.1093/ibd/izy076>.
21. Detrez I, Van Stappen T, Martín Arranz MD, Papamichael K, Gils A. Current Practice for Therapeutic Drug Monitoring of Biopharmaceuticals in Inflammatory Bowel Disease. *Therapeutic Drug Monitoring* 2017;39:344. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000394>.
22. Ding NS, Hart A, De Cruz P. Systematic review: predicting and optimising response to anti-TNF therapy in Crohn's disease – algorithm for practical management. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 2016;43:30–51. <https://doi.org/10.1111/apt.13445>.
23. Facchin S, Buda A, Cardin R, Agbariah N, Zingone F, De Bona M, et al. Rapid point-of-care anti-infliximab antibodies detection in clinical practice: comparison with ELISA and potential for improving therapeutic drug monitoring in IBD patients. *Therap Adv Gastroenterol* 2021;14:1756284821999902. <https://doi.org/10.1177/1756284821999902>.
24. Feagan BG, Sandborn WJ, Gasink C, Jacobstein D, Lang Y, Friedman JR, et al. Ustekinumab as Induction and Maintenance Therapy for Crohn's Disease. *N Engl J Med* 2016;375:1946–60. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1602773>.
25. Fuss IJ, Heller F, Boirivant M, Leon F, Yoshida M, Fichtner-Feigl S, et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *J Clin Invest* 2004;113:1490–7. <https://doi.org/10.1172/JCI19836>.
26. Lamb CA, Kennedy NA, Raine T, Hendy PA, Smith PJ, Limdi JK, et al. British Society of Gastroenterology consensus guidelines on the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut* 2019;68:s1–106. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2019-318484>.
27. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159–74.
28. Laserna-Mendieta EJ, Salvador-Martín S, Arias-González L, Ruiz-Ponce M, Menchén LA, Sánchez C, et al. Comparison of a new rapid method for the determination of adalimumab serum levels with two established ELISA kits. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:1906–14. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0202>.
29. Magro F, Afonso J, Lopes S, Coelho R, Gonçalves R, Caldeira P, et al. Clinical performance of an infliximab rapid quantification assay. *Berufsdermatosen* 2017;15:253–69.
30. Martelli L, Olivera P, Roblin X, Attar A, Peyrin-Biroulet L. Cost-effectiveness of drug monitoring of anti-TNF therapy in inflammatory bowel disease and rheumatoid arthritis: a

- systematic review. *J Gastroenterol* 2016;52:19–25. <https://doi.org/10.1007/s00535-016-1266-1>.
31. Megna BW, Vaughn BP. Therapeutic Drug Monitoring in Practice for Inflammatory Bowel Disease. *Current Gastroenterology Reports* 2022;24:191–200. <https://doi.org/10.1007/s11894-022-00854-5>.
 32. Merino V, Sánchez JG. Monitorización farmacocinética de fármacos biológicos en enfermedad inflamatoria intestinal. En: Merino V, Argüelles F, coordinadores. *Guía de práctica farmacéutica en enfermedad inflamatoria intestinal*, SEFH. Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria; 2022, p. 67–95.
 33. Mitrev N, Leong RW. Therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor- α agents in inflammatory bowel disease. *Expert Opinion on Drug Safety* 2017;16:303–17. <https://doi.org/10.1080/14740338.2017.1269169>.
 34. Mitrev N, Vande Casteele N, Seow CH, Andrews JM, Connor SJ, Moore GT, et al. Review article: consensus statements on therapeutic drug monitoring of anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;46:1037–53. <https://doi.org/10.1111/apt.14368>.
 35. Monaco C, Nanchahal J, Taylor P, Feldmann M. Anti-TNF therapy: past, present and future. *Int Immunol* 2014;27:55–62. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxu102>.
 36. Moss AC. Optimizing the use of biological therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2014;3:63–8. <https://doi.org/10.1093/gastro/gou087>.
 37. Nasser Y, Labetoulle R, Harzallah I, Berger A-E, Roblin X, Paul S. Comparison of Point-of-Care and Classical Immunoassays for the Monitoring Infliximab and Antibodies Against Infliximab in IBD. *Dig Dis Sci* 2018;63:2714–21. <https://doi.org/10.1007/s10620-018-5144-y>.
 38. Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2014;14:329–42. <https://doi.org/10.1038/nri3661>.
 39. Neurath MF. New targets for mucosal healing and therapy in inflammatory bowel diseases. *Mucosal Immunol* 2013;7:6–19. <https://doi.org/10.1038/mi.2013.73>.
 40. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet* 2017;390:2769–78. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32448-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32448-0).
 41. Nikolaus S, Schreiber S. Diagnostics of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007;133:1670–89. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.09.001>.
 42. Novakovic V, Abdija S, Larsen PB, Fenger M, Gredal L, Jacobsen KK. Comparison of the Quantum Blue® reader Point-of-Care system versus ELISA technique for therapeutic drug monitoring of Infliximab levels. *Clinical Biochemistry* 2019;74:73–5. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2019.10.010>.
 43. Núñez P, Figueroa C, Flores L, Ibáñez P, Lubascher J, Simian D, et al. Terapia combinada en enfermedad inflamatoria intestinal: ¿Una asociación necesaria? *Gastroenterología Latinoamericana* 2018;29:69–74.

44. Papamichael K, Afif W, Drobne D, Dubinsky MC, Ferrante M, Irving PM, et al. Therapeutic drug monitoring of biologics in inflammatory bowel disease: unmet needs and future perspectives. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 2022;7:171–85. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(21\)00223-5](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(21)00223-5).
45. Papamichael K, Vogelzang EH, Lambert J, Wolbink G, Cheifetz AS. Therapeutic drug monitoring with biologic agents in immune mediated inflammatory diseases. *Expert Rev Clin Immunol* 2019;15:837–48. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1630273>.
46. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in Clinical Chemistry, Part I. *Cclm* 1983;21:709–20. <https://doi.org/10.1515/cclm.1983.21.11.709>.
47. Pérez I, Fernández L, Sánchez-Ramón S, Alba C, Zatarain A, Cañas M, et al. Reliability evaluation of four different assays for therapeutic drug monitoring of infliximab levels. *Therap Adv Gastroenterol* 2018;11:1756284818783613. <https://doi.org/10.1177/1756284818783613>.
48. 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* 2014;12:80-84.e2. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.07.010>.
49. Rocha C, Afonso J, Lago P, Arroja B, Vieira AI, Dias CC, et al. Accuracy of the new rapid test for monitoring adalimumab levels. *Therap Adv Gastroenterol* 2019;12:1–11. <https://doi.org/10.1177/1756284819828238>.
50. Rodríguez-Moranta F, Lobatón T, Rodríguez-Alonso L, Guardiola J. Calprotectina fecal en el diagnóstico de enfermedades inflamatorias. *Gastroenterología y Hepatología* 2012;36:400–6. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2012.10.008>.
51. Rosario M, Dirks NL, Gastonguay MR, Fasanmade AA, Wyant T, Parikh A, et al. Population pharmacokinetics-pharmacodynamics of vedolizumab in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;42:188–202. <https://doi.org/10.1111/apt.13243>.
52. Ruiz-Argüello MB, Pascual J, Rio LD, Urigoitia A, Balo-Farto C, Fernández-López C, et al. Correlation of the First Lateral Flow-Based Point of Care Test to Quantify Infliximab and Anti-Infliximab Antibodies in a Finger Prick Sample with the Reference Elisa Technique. *Ann Rheum Dis* 2022;81:1311–2. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2022-eular.4554>.
53. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Prim Care Clin Office Pract* 2017;44:673–92. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2017.07.010>.
54. Sánchez D, Callejas JL, Ortego N. Uso de los fármacos antagonistas del factor de necrosis tumoral en las enfermedades autoinmunes: situación actual. *Med clín (Ed impr)* 2008;471–7.
55. Sandborn WJ, Su C, Sands BE, D'Haens GR, Vermeire S, Schreiber S, et al. Tofacitinib as Induction and Maintenance Therapy for Ulcerative Colitis. *N Engl J Med* 2017;376:1723–36. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1606910>.

56. Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* 2009;59:49–54. <https://doi.org/10.1136/gut.2009.183095>.
57. Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. *J Med Life* 2019;12:113–22. <https://doi.org/10.25122/jml-2018-0075>.
58. Shanahan F. Crohn's disease. *Lancet* 2002;359:62–9. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07284-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07284-7).
59. Soler D, Chapman T, Yang L-L, Wyant T, Egan R, Fedyk ER. The binding specificity and selective antagonism of vedolizumab, an anti-alpha4beta7 integrin therapeutic antibody in development for inflammatory bowel diseases. *J Pharmacol Exp Ther* 2009;330:864–75. <https://doi.org/10.1124/jpet.109.153973>.
60. Spencer EA, Dubinsky MC. Therapeutic Drug Monitoring in Inflammatory Bowel Disease: History and Future Directions. *Pediatr Clin N Am* 2017;64:1309–26. <https://doi.org/10.1016/j.pcl.2017.08.008>.
61. Steenholdt C, Ainsworth MA, Tovey M, Klausen TW, Thomsen OO, Brynskov J, et al. Comparison of techniques for monitoring infliximab and antibodies against infliximab in Crohn's disease. *Ther Drug Monit* 2013a;35:530–8. <https://doi.org/10.1097/FTD.0b013e31828d23c3>.
62. Steenholdt C, Bendtzen K, Brynskov J, Ainsworth MA. Optimizing Treatment with TNF Inhibitors in Inflammatory Bowel Disease by Monitoring Drug Levels and Antidrug Antibodies. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:1999–2015. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000772>.
63. Steenholdt C, Bendtzen K, Brynskov J, Thomsen OØ, Ainsworth MA. Cut-off levels and diagnostic accuracy of infliximab trough levels and anti-infliximab antibodies in Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2010;46:310–8. <https://doi.org/10.3109/00365521.2010.536254>.
64. Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen OØ, Munck LK, Fallingborg J, Christensen LA, et al. Individualised therapy is more cost-effective than dose intensification in patients with Crohn's disease who lose response to anti-TNF treatment: a randomised, controlled trial. *Gut* 2013b;63:919–27. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2013-305279>.
65. Strik AS, Bots SJA, D'Haens G, Löwenberg M. Optimization of anti-TNF therapy in patients with Inflammatory Bowel Disease. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2016;9:429–39. <https://doi.org/10.1586/17512433.2016.1133288>.
66. Tabatabaei MS, Ahmed M. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). En: Christian SL, editor. *Cancer Cell Biology. Methods in Molecular Biology*, vol 2508. New York: Humana; 2022. p. 115–34. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2376-3_10
67. Tran V, Shammass RM, Sauk JS, Padua D. Evaluating tofacitinib citrate in the treatment of moderate-to-severe active ulcerative colitis: design, development and positioning of therapy. *Clin Exp Gastroenterol* 2019;12:179–91. <https://doi.org/10.2147/CEG.S150908>.

68. Ungar B, Kopylov U, Engel T, Yavzori M, Fudim E, Picard O, et al. Addition of an immunomodulator can reverse antibody formation and loss of response in patients treated with adalimumab. *Aliment Pharmacol Ther* 2016;45:276–82. <https://doi.org/10.1111/apt.13862>.
69. Valdés T. (2020) *Monitorización de niveles de Infliximab y anticuerpos Anti-Infliximab en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal en práctica clínica* (Tesis doctoral). Recuperado de <https://idus.us.es/handle/11441/110593>
70. Valdés T, Guerra MF, Castro L, Maldonado B, Perea Amarillo R, Merino V, et al. Cut-off ranges of infliximab serum levels in Crohn's disease in the clinical practice. *Rev Esp Enferm Dig* 2020;112:756–61. <https://doi.org/10.17235/reed.2020.6539/2019>.
71. Van den Bossche D, Smet DD, Debrabandere J, Vanpoucke H. Analytical and clinical performance evaluation of two POC tests for therapeutic drug monitoring of infliximab. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* 2018;57:856–63. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-0891>.
72. Vogelaar L, Spijker AV, van der Woude CJ. The impact of biologics on health-related quality of life in patients with inflammatory bowel disease. *Clin Exp Gastroenterol* 2009;2:101–9. <https://doi.org/10.2147/ceg.s4512>.
73. Weisshof R, El Jurdi K, Zmeter N, Rubin DT. Emerging Therapies for Inflammatory Bowel Disease. *Adv Ther* 2018;35:1746–62. <https://doi.org/10.1007/s12325-018-0795-9>.
74. Williams DR, Collier JA, Corman ML, Nugent FW, Veidenheimer MC. Anal complications in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 1981;24:22–4. <https://doi.org/10.1007/BF02603444>.
75. Willrich MAV, Murray DL, Barnidge DR, Ladwig PM, Snyder MR. Quantitation of infliximab using clonotypic peptides and selective reaction monitoring by LC–MS/MS. *International Immunopharmacology* 2015;28:513–20. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2015.07.007>.
76. Wyant T, Fedyk E, Abhyankar B. An Overview of the Mechanism of Action of the Monoclonal Antibody Vedolizumab. *J Crohns Colitis* 2016;10:1437–44. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjw092>.
77. Yarur AJ, Jain A, Hauenstein SI, Quintero MA, Barkin JS, Deshpande AR, et al. Higher Adalimumab Levels Are Associated with Histologic and Endoscopic Remission in Patients with Crohn's Disease and Ulcerative Colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2016;22:409–15. <https://doi.org/10.1097/MIB.0000000000000689>.
78. Yarur AJ, Kanagala V, Stein DJ, Czul F, Quintero MA, Agrawal D, et al. Higher infliximab trough levels are associated with perianal fistula healing in patients with Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2017;45:933–40. <https://doi.org/10.1111/apt.13970>.