

# Comparaison de deux réactifs de dosage plasmatique des anticorps anti-infliximab

## *Comparison of two kits of anti-infliximab antibodies plasmatic measurement*

Rim Charfi<sup>1</sup>

Ines Mahmoud<sup>2</sup>

Fatma Ben Salem<sup>1</sup>

Myriam Moalla<sup>2</sup>

Salma Bouden<sup>2</sup>

Imen Sfar<sup>3</sup>

Olfa Saïdane<sup>2</sup>

Anis Klouz<sup>1</sup>

Riadh Daghfous<sup>1</sup>

Yousr Gorgi<sup>3</sup>

Leila Abdelmoula<sup>2</sup>

Sameh Trabelsi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Université de Tunis El Manar-Faculté de médecine de Tunis, Centre national de pharmacovigilance, Service de pharmacologie clinique, Laboratoire de pharmacologie clinique et expérimentale (LR 16SP02), Tunis, Tunisie

<sup>2</sup> Université de Tunis El Manar, Faculté de médecine de Tunis, Hôpital Charles Nicolle, Service de rhumatologie, Laboratoire de pharmacologie clinique et expérimentale (LR 16SP02), Tunisie

<sup>3</sup> Université de Tunis El Manar, Faculté de médecine de Tunis, Hôpital Charles Nicolle, Service d'immunologie, Laboratoire de recherche en immunologie de la transplantation rénale et immunopathologie (LR03SP01), Tunis, Tunisie

**Résumé.** L'infliximab (IFX) est un anticorps monoclonal chimérique qui a prouvé son efficacité dans la prise en charge des maladies inflammatoires. Toutefois, son efficacité peut être limitée par le développement d'anticorps anti-infliximab (ATI) qui est une des causes de l'échec thérapeutique par IFX. D'où l'intérêt du dosage sérique de l'ATI chez les patients recevant l'IFX afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique. L'objectif de cette étude était de comparer les résultats des dosages plasmatiques des ATI effectués par deux kits de dosage. *Méthodes* : La validation du kit Elisa était basée sur l'étude de la précision et l'exactitude. L'évaluation de la performance était basée sur l'étude de la corrélation et de la concordance (méthode de Bland-Altman) des absorbances mesurées par les deux lecteurs. *Résultats* : Nous avons colligé 23 prélèvements. Les ATI sériques étaient positifs dans neuf cas. L'étude de la corrélation entre les deux lecteurs a montré un coefficient de corrélation  $r^2$  de 99,95 %. Les limites de concordance de l'intervalle de confiance à 95 % étaient [-112,768 % - 41,425 %] avec un biais de -35,671 %. La répétabilité et la reproductibilité ont été vérifiées par un contrôle positif avec un coefficient de variation respectivement de 5,574 % et 14,184 %. Les limites de détection et de quantification étaient respectivement de 0,046 et 0,086. Les valeurs prédictives positive et négative étaient de 0,5 et 1. La sensibilité a été estimée à 100 % et la spécificité à 83 %. *Conclusion* : L'évaluation de la performance du lecteur de microplaques et la validation du kit Elisa testé ont montré de bons résultats permettant désormais le dosage de routine des ATI afin d'aider à une meilleure prise en charge thérapeutique des patients sous IFX.

**Mots clés :** anticorps anti-infliximab, méthodes de dosage, Elisa, suivi thérapeutique pharmacologique

**Abstract.** Infliximab (IFX) is a chimeric monoclonal antibody which has proven its efficacy in the treatment of inflammatory diseases. However, its efficacy can be limited by the development of anti-IFX antibodies (ATI) resulting in a therapeutic failure of IFX. ATI plasmatic monitoring is then indicated to optimize IFX treatment. The aim of this study was to validate an ELISA (enzyme linked immuno sorbent assay) method of ATI plasmatic monitoring. *Methods*: Assessment of performance was based on the study of correlation and concordance (Bland Altman method) of the absorbances measured by the two readers. ELISA kit validation was made by calculating the accuracy and the exactitude. *Results*: We collected 23 samples. Their mean age was 46 years and sex ratio M/W was 0.92. In nine cases, plasmatic AIT were positive and in 14 cases, they were not detected. Correlation between the two readers showed a correlation coefficient  $r^2$  of 99.95%. Concordance limits of the confidence interval 95% were [-112.768%-41.425%] with a bias of -35.671%. Repeatability and reproductibility were checked by a positive control and

Article reçu le 19 septembre 2018,  
accepté le 05 juillet 2019

**Correspondance :** R. Charfi  
<charfirim@yahoo.fr>

coefficients of variation were respectively of 5.574% and 14.184%. Limits of detection and quantification were respectively of 0.046 and 0.086. The positive predictive value was 0.5 and the negative predictive value was 1. The sensitivity was 100% and the specificity was 83%. *Conclusion:* The assessment of the performance of the tested microplate reader and the validation of the tested ELISA kit showed good results allowing ATI routine measurement to optimize therapeutic management of patients treated by IFX.

**Key words:** anti-infliximab antibodies, assay methods, ELISA, therapeutic drug monitoring

L'infliximab (IFX) est un anticorps monoclonal chimérique type immunoglobuline 1 monoclonale qui se lie et neutralise le facteur de nécrose tumorale (TNF- $\alpha$ ) [1]. L'IFX réduit, ainsi, la réponse inflammatoire et permet d'induire une rémission chez 50 % des patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) [2]. Il est également indiqué dans les affections rhumatismales notamment la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante et le rhumatisme psoriasique.

L'IFX a connu un succès thérapeutique majeur. Toutefois, son efficacité se trouve considérablement limitée par l'incidence de ses effets indésirables et le développement d'anticorps anti-IFX (ATI) qui sont à l'origine d'une inefficacité thérapeutique [3].

De nombreux essais ont montré une relation nette entre la concentration sérique de l'IFX détectable et l'évolution clinique favorable avec contrôle de l'inflammation [4, 5]. Cependant, la présence d'ATI sériques est associée à une perte de réponse clinique par neutralisation de l'activité de l'IFX et diminution de sa demi-vie de 35 % [6, 7]. Il en résulte d'une part un échec thérapeutique et des conséquences pharmaco-économiques notables vu le coût élevé de l'IFX. D'où l'intérêt du dosage sérique de l'IFX et des ATI chez les patients recevant l'IFX afin d'optimiser la conduite à tenir thérapeutique. Dans le but d'inhiber la formation des ATI, certaines études suggèrent une augmentation la posologie d'IFX permettant d'éliminer ces ATI transitoires et de combiner le traitement à l'IFX avec des immunomodulateurs tels que l'azathioprine ou le méthotrexate [8-10]. Enfin, une modification de l'IFX par une autre molécule anti-TNF- $\alpha$ , telle que l'adalimumab peut être recommandée. Cependant, il n'existe pas de différence significative quant à la formation d'anticorps anti-biomédicament entre les patients recevant l'IFX ou l'adalimumab [10].

Il existe plusieurs techniques analytiques permettant le dosage des ATI sériques dont la technique immuno-enzymatique Elisa (*enzyme linked immuno sorbent assay*). De nombreuses méthodes de dosage plasmatique des ATI sont disponibles. Toutefois, les résultats sont variables en fonction des méthodes et les études comparatives des différentes méthodes sont rares [11].

Dans le cadre du dosage en routine des ATI sériques moyennant la technique Elisa, nous nous sommes proposés de :

- évaluer la performance d'un nouveau lecteur spectrophotométrique de microplaques Mindray MR\_96A® en comparant les densités optiques (DO) mesurées avec celle d'un ancien lecteur le Seac Radim® ;
- comparer les résultats des DO mesurées des ATI par le kit Elisa Neobiotech® à celles mesurées par le kit Promonitor®, utilisé auparavant.

## Méthodes

Il s'agit d'une étude prospective menée de février 2015 à mars 2016 aux départements de pharmacologie, de rhumatologie et d'immunologie. Nous avons collecté des prélèvements sanguins de patients atteints de maladies inflammatoires rhumatologiques traités par l'IFX. Chaque prélèvement était accompagné d'une fiche de renseignement dûment remplie. Les prélèvements ont été effectués juste avant la 4<sup>e</sup> perfusion d'IFX. Les prélèvements sanguins ont été centrifugés et les sérums ont ensuite été stockés à - 20 °C jusqu'au moment de l'analyse par DAS Elisa directe (*double antibody sandwich Elisa*). Il s'agit d'une technique immunoenzymatique qui permet de visualiser une réaction antigène-anticorps grâce à une coloration produite par l'action d'une enzyme (préalablement fixée à l'anticorps) sur un substrat.

Pour le dosage qualitatif des ATI, nous avons utilisé la microplaque à 96 puits, le contrôle négatif (CN), le contrôle positif (CP), le tampon de lavage, le diluant de l'échantillon, la peroxydase de raifort, le substrat chromogène 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine et la solution d'arrêt. La préparation des échantillons a été effectuée manuellement. Cette étude s'est déroulée en trois étapes :

- le dosage des ATI sériques : nous avons procédé à une analyse des échantillons contrôles trois fois et à une duplication des échantillons des patients dans la même microplaque. En suivant la fiche technique procurée avec le kit Neobiotech® et pour affirmer qu'un résultat était valide, la DO du CP devait être supérieure ou égale à 1 et la DO du CN inférieure à 0,3. Le cut-off correspondait à trois fois le

CN. Les résultats des concentrations sériques des ATI des patients étaient interprétés comme suit : si la DO moyenne du patient était inférieure au cut-off alors absence des ATI ; si la DO moyenne du patient était supérieure au cut-off alors présence des ATI ;

– l'évaluation de la performance du nouveau lecteur spectrophotométrique de microplaques Mindray MR\_96A®. Pour ce faire, nous avons procédé à une lecture des échantillons sériques de patients pour le dosage des ATI sur la microplaque Elisa, d'abord par le lecteur spectrophotométrique utilisé en routine au département d'immunologie le Seac Radim® puis par le Mindray MR\_96A®, nouvellement acquis par le département de pharmacologie. Cette évaluation a consisté en une comparaison des DO mesurées par ces deux lecteurs et la recherche de corrélation (courbe de régression linéaire) et l'accord (la méthode graphique de Bland-Altman) [12] et ce moyennant le logiciel Graph Pad Prism 5.01.

- La régression linéaire : recherche l'existence d'une relation de proportionnalité entre 2 séries numériques sans relation obligatoire de dimension ou d'unité entre elles ;
- La méthode Bland-Altman : permet d'évaluer la concordance des différents résultats obtenus par les deux lecteurs. Le graphe représente en ordonnée le % des différences des DO des ATI et en abscisse la moyenne des DO/2 [12] ;

– dans le but de poursuivre le suivi de nos patients sous IFX, nous avons procédé à une comparaison des résultats fournis par l'ancien kit Promonitor® et une validation du kit Neobiotech® qui a été effectuée par l'étude de la précision et de l'exactitude [12]. La linéarité n'a pas été évaluée car nous n'avions pas d'échantillons chargés avec des concentrations connues d'ATI dans le kit. La précision a été déterminée par l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) qui doit être inférieur ou égal à 20 % selon les bonnes pratiques [12].

$$CV = \frac{ET \times 100}{Moyenne}$$

$$ET = \sqrt{Variance} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^p n_i \cdot (x_i - \bar{x})^2}{N}}$$

L'étude de la précision a été évaluée par la répétabilité, la reproductibilité et les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ). La répétabilité a été évaluée par une mesure du même échantillon plusieurs fois pour un paramètre au cours d'une même série (le même jour), dans des conditions standardisées. La reproductibilité exprime l'imprécision des mesures d'un même échantillon testé pour le même paramètre mais sur différents jours (les 21 et 27 mai 2016). Les LOD et LOQ ont été déterminées par les formules suivantes :

$$LOD = 3 \delta a \quad LOQ = 10 \delta a$$

$\delta a$  est l'écart-type de l'ordonnée de la courbe de régression. L'exactitude a été déterminée par la comparaison des DO du kit Elisa Neobiotech® à tester avec celles du kit Promonitor® pour le dosage des ATI sériques dans le cadre d'une étude menée en mai 2015.

Le tableau de contingence a été dressé et a permis le calcul des paramètres suivants :

- valeur prédictive négative :  $VPN = VN / (VN + FN)$
- valeur prédictive positive :  $VPP = VP / (VP + FP)$
- sensibilité =  $VP / (VP + FN)$
- spécificité =  $VN / (VN + FP)$

VP : vrai positif correspondant au nombre d'échantillons qui sont positifs autant avec la méthode à évaluer qu'avec la méthode de référence

FP : faux positif correspondant au nombre d'échantillons qui sortent positifs avec la méthode à évaluer, mais qui sont négatifs avec la méthode de référence

VN : vrai négatif correspondant au nombre d'échantillons qui sont négatifs autant avec la méthode à évaluer qu'avec la méthode de référence

FN : faux négatif correspondant au nombre d'échantillons qui sortent négatifs avec la méthode à évaluer, mais qui sont positifs avec la méthode de référence

## Résultats

Nous avons inclus 23 échantillons provenant de 23 malades recevant IFX. La moyenne d'âge était 46 ans et l'écart-type de 16 ans. Le sex ratio H/F était 0,92. Les patients étaient suivis pour rhumatisme des MICI (10 cas), spondylarthrite ankylosante (sept cas), polyarthrite rhumatoïde (cinq cas) et rhumatisme psoriasique (un cas). La dose pondérale moyenne prescrite d'IFX était 5,29 mg/kg. Les résultats obtenus suite à la réalisation du dosage sérique des ATI suivant le protocole expérimental étaient les suivants : blanc = 0,025 µg/mL, CN = 0,014 µg/mL, CP = 1,524 µg/mL et cut-off = 0,042 µg/mL. Parmi les prélèvements, les ATI étaient positifs dans neuf cas et ils n'ont pas été détectés dans 14 cas.

Pour l'étude de performance du lecteur Elisa testé, nous avons analysé les DO des 53 micropuits de la plaque Elisa pour le dosage sérique des ATI. La recherche de la corrélation entre les DO obtenues pour le lecteur testé et celui de référence (figure 1) a mis en évidence un coefficient de corrélation  $r^2$  de 99,95 %. Pour la méthode graphique de Bland-Altman (figure 2), les limites de concordance de l'intervalle de confiance à 95 % étaient [-112,768 % ; 41,425 %] avec un biais de -35,671 %. Seuls deux échantillons parmi 53 ont dépassé ces limites (3,7 %). Nous avons procédé, par la suite, à l'évaluation de la précision, l'exactitude et de la cadence afin de valider le kit Elisa testé.

Pour l'évaluation de la précision, une étude de la répétabilité et de la reproductibilité a été effectuée.

Pour l'étude de la répétabilité nous avons testé le même jour le CP 3 fois (*tableau 1*). Le CV obtenu pour le CP était égal à 5,574 %.

Concernant la reproductibilité, le CP a été testé deux jours de suite à trois reprises chaque jour (*tableau 2*). Le CV obtenu était de 14,184 %.

Les LOD et LOQ étaient respectivement de 0,046 µg/mL et 0,086 µg/mL.

Par la suite, nous avons procédé à l'étude de l'exactitude qui a été déterminée par la comparaison des DO du kit Elisa à tester avec celles du kit Promonitor® pour le dosage des ATI sériques. Le tableau de contingence dressé pour les sept échantillons dosés a permis le calcul de la VPP et de la VPN, qui étaient respectivement de 0,5 et 1. La sensibilité a été estimée à 100 % et la spécificité à 83 % (*tableau 3*). Enfin, la cadence était similaire pour les deux lecteurs.

## Discussion

Dans cette étude, nous avons procédé au dosage sérique des ATI de 23 échantillons de 23 patients dont neuf avaient

**Tableau 1.** Répétabilité du contrôle positif.

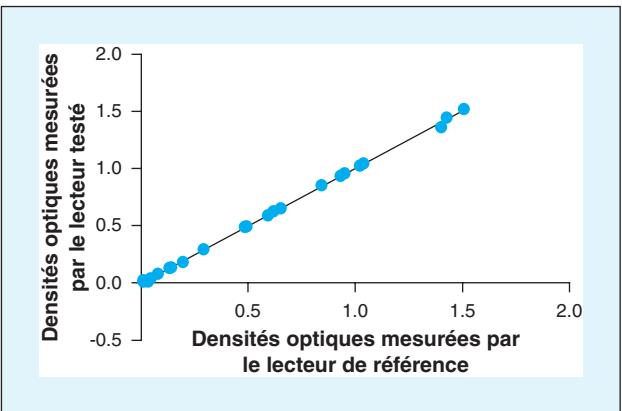
Densités optiques selon les dates	21/04/2016	27/04/2016
	1,368	1,524
	0,986	1,363
	1,466	1,448
Moyenne	1,273	1,445
Écart-type	0,254	0,081
Coefficient de variation	19,917	5,574

**Tableau 2.** Reproductibilité du contrôle positif.

Densités optiques du 21/04/2016	1,368
	0,986
	1,466
Densités optiques du 27/04/2016	1,524
	1,363
	1,448
Moyenne	1,359
Écart-type	0,193
Coefficient de variation	14,184 %

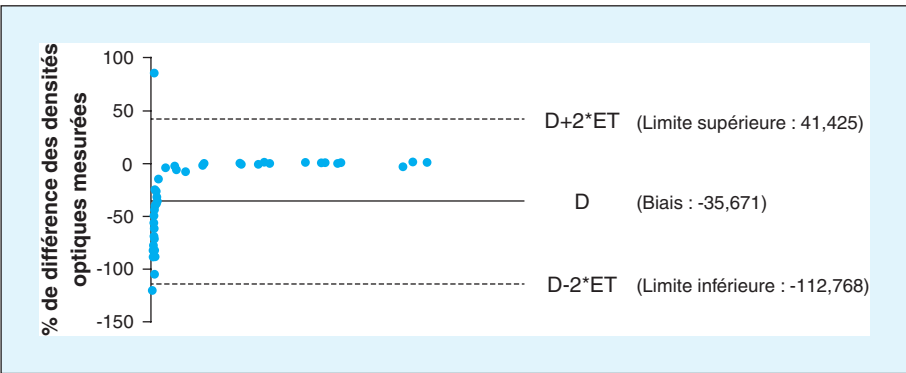
**Tableau 3.** Tableau de contingence.

	Test + (Promonitor®)	Test - (Promonitor®)
Test + (Neobiotech®)	VP = 1	FP = 1
Test - (Neobiotech®)	FN = 0	VN = 5



**Figure 1.** Courbe de régression linéaire des densités mesurées par le lecteur testé en fonction du lecteur de référence.

des ATI sériques positifs et 14 n'en avaient pas. Une des raisons de l'échec thérapeutique chez les patients traités par l'IFX est l'apparition des ATI. Ces ATI sont neutralisants et empêchent l'action de l'IFX [13]. En effet, en formant des complexes immuns avec l'IFX, ils peuvent



**Figure 2.** Graphe de Bland-Altman.

significativement augmenter sa clairance et réduire ainsi sa biodisponibilité [14]. Des études ont rapporté que les concentrations sériques d'IFX circulant étaient corrélées avec une bonne réponse clinique, une rémission et une guérison de la muqueuse chez les patients atteints de MICI, tandis que la présence d'ATI et les concentrations sériques d'IFX infra-thérapeutiques étaient associées à des résultats plus décevants [15, 16].

Un suivi thérapeutique pharmacologique des concentrations sériques d'IFX associé à la détection des ATI chez ces patients permettrait d'optimiser le traitement [17, 18]. Pour ce faire, différentes méthodes sont disponibles pour le monitoring plasmatique de l'ATI. Toutefois, les résultats sont variables en fonction des méthodes qui requièrent une standardisation avec définition de cut-off bien précis pour chacune d'elle [11].

Cette étude a permis d'évaluer la performance du lecteur de microplaques Elisa testé Mindray MR\_96A® en le comparant au lecteur Seac Radim®. Le coefficient de corrélation était très proche de 1, ce qui nous a permis de conclure à une bonne concordance entre les deux appareils. Pour la validation du kit Elisa Neobiotech®, le CV était égal à 5,574 % pour la répétabilité et à 14,184 % pour la reproductibilité. Ces résultats suggèrent une bonne précision. La comparaison du kit à tester avec le kit Promonitor® a montré une VPP et une VPN respectivement égales à 0,5 et 1, ce qui traduit l'absence de faux négatifs alors que celle des faux positifs est possible. Par ailleurs, le kit Elisa Neobiotech® testé avait une excellente sensibilité (100 %) avec une bonne spécificité (83 %) par rapport au kit Promonitor®.

Dans une étude d'Afonso *et al.*, les concentrations sériques des ATI ont été évaluées par trois méthodes Elisa de dosage : la méthode anti-chaîne lambda humaine, développée en interne et deux kits Elisa commerciaux : un semi-quantitatif (Immundiagnostik AG®, Germany) et un quantitatif (Lisa-Tracker Premium Infliximab Elisa®, Theradiag®, France). La variabilité entre les différentes méthodes a été rapportée surtout pour les valeurs proches de la LOD. Lorsque les concentrations sériques des ATI étaient proches de 1 µg/mL, les valeurs mesurées par les trois méthodes étaient similaires [11]. Dans notre étude, la LOD était de 0,046 µg/mL, proche du cut-off. Les cut-offs des méthodes de dosage quantitatif sont difficiles à établir pour les ATI puisque les unités sont différentes selon les méthodes. De plus, certains kits, tels que Immundiagnostik®, définissent un cut-off différent de la LOD et des autres méthodes. Alors que pour d'autres kits tels que Theradiag®, la LOD de 0,01 µg/mL [11]. En effet, ceci peut être expliqué par le fait que la performance de la technique Elisa dépend du taux des ATI sériques et de l'affinité aux ATI de la technique [19]. Les dosages des ATI ont longtemps été faits par la méthode immuno-enzymatique Elisa. L'un des inconvénients du dosage des ATI par Elisa est une sous-estimation de la

quantité d'ATI en circulation car la présence sérique d'IFX interfère potentiellement avec la réaction immunologique. Le RIA, autre méthode de dosage, présente des problèmes de biosécurité reliés à l'utilisation de substances radioactives et devient ainsi progressivement désuet. Une méthode nommée le *Homogeneous mobility shift assay* (HMSA) utilise plutôt les principes de chromatographie d'exclusion stérique pour mesurer les deux molécules d'intérêt. Un avantage potentiel de la méthode HMSA est que le dosage des ATI pourrait être moins affecté en présence d'IFX circulants, et ce, grâce à un traitement préalable de l'échantillon [20].

## Conclusion

Les résultats de l'évaluation de la performance du lecteur Elisa testé ont montré de bonnes corrélations ( $r^2 = 99,95\%$ ) et concordance (biais = -35,67) et des CV corrects (5,57 et 14,18 %). La validation du kit Elisa testé pour le dosage des concentrations sériques des ATI a montré de bonnes sensibilité et spécificité. Ainsi, le nouveau kit Elisa et le lecteur testé peuvent désormais servir au dosage de routine des ATI et aider à une meilleure prise en charge thérapeutique et économique des patients sous IFX.

**Liens d'intérêts :** les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

## Références

1. Marits P, Landucci L, Sundina U, Davidsdottir L, Nilssona J, Befrits R, *et al.* Trough s-infliximab and antibodies towards infliximab in a cohort of 79 inflammatory bowel disease patients with maintenance infliximab treatment. *J Crohns Colitis* 2014 ; 8(8) : 881-9.
2. Nanda KS, Cheifetz AS, Moss AC. Impact of antibodies to infliximab on clinical outcomes and serum infliximab levels in patients with inflammatory bowel disease (IBD) : a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013 ; 108(1) : 40-7.
3. Mourad AA, Boktor MN, Yilmaz-Demirdag Y, Bahna SL. Adverse reactions to infliximab and the outcome of desensitization. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2015 ; 115(2) : 143-6.
4. 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* 2010 ; 59 : 49-54.
5. Maser EA, Villela R, Silverberg MS, Greenberg GR. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006 ; 4 : 1248-54.
6. Afif W, Loftus Jr. EV, Faubion WA, Kane SV, Bruining DH, Hanson KA, *et al.* Clinical utility of measuring infliximab and human anti-chimeric antibody concentrations in patients with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2010 ; 105 : 1133-9.
7. Ternant D, Aubourg A, Magdelaine-Beuzelin C, Degenne D, Watier H, Picon L, *et al.* Infliximab pharmacokinetics in inflammatory bowel disease patients. *Therapeutic Drug Monit* 2008 ; 30(4) : 523-9.



8. Vande Casteele N, Gils A, Singh S, Ohrmund L, Hauenstein S, Rutgeerts P, *et al.* Antibody response to infliximab and its impact on pharmacokinetics can be transient. *Am J Gastroenterol* 2013 ; 108(6) : 962-71.
9. 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 England J Med* 2003 ; 348(7) : 601-8.
10. Ben-Horin S, Waterman M, Kopylov U, Yavzori M, Picard O, Fudim E, *et al.* Addition of an immunomodulator to infliximab therapy eliminates antidrug antibodies in serum and restores clinical response of patients with inflammatory bowel disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013 ; 11(4) : 444-7.
11. Afonso J, Lopes S, Goncalves R, Caldeira P, Lago P, Tavares de Sousa H, *et al.* Detection of anti-infliximab antibodies is impacted by antibody titer, infliximab level and IgG4 antibodies: a systematic comparison of three different assays. *Ther Adv Gastroenterol* 2016 ; 9(6) : 781-94.
12. Vassault A, Hulin A, Chapuzet E, Arnaud J, Giroud C, et les membres du sous-groupe 2 analytique de la SFBC C. Vérification/validation des performances d'une méthode d'analyse. *Ann Biol Clin* 2010 ; 68(Suppl. 1) : 247-94.
13. Van Schie KA, Hart MH, De Groot ER, Kruithof S, Aarden LA, Wolbink GJ, *et al.* The antibody response against human and chimeric anti-TNF therapeutic antibodies primarily targets the TNF binding region. *Ann Rheum Dis* 2015 ; 74 : 311-4.
14. Vande Casteele N, Feagan BG, Gils A, Vermeire S, Khanna R, Sandborn WJ, *et al.* Therapeutic drug monitoring in inflammatory bowel disease: current state and future perspectives. *Curr Gastroenterol Rep* 2014 ; 16 : 378.
15. 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* 2010 ; 59 : 49-54.
16. Adedokun OJ, Sandborn WJ, Feagan BG, Rutgeerts P, Xu Z, Marano CW, *et al.* Association between serum concentration of infliximab and efficacy in adult patients with ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2014 ; 147 : 1296-307.
17. Velayos FS, Kahn JG, Sandborn WJ, Feagan BG. A test-based strategy is more cost effective than empiric dose escalation for patients with Crohn's disease who lose responsiveness to infliximab. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013 ; 11 : 654-66.
18. Steenholdt C, Brynskov J, Thomsen OO, Munck LK, Fallingborg J, Christensen LA, *et al.* Individualized therapy is a long-term cost-effective method compared to dose intensification in Crohn's disease patients failing infliximab. *Dig Dis Sci* 2015 ; 60 : 2762-70.
19. Van Schouwenburg P, Kruithof S, Wolbink G, Wouters D, Ris-pens T. Using monoclonal antibodies as an international standard for the measurement of anti-adalimumab antibodies. *J Pharm Biomed Anal* 2016 ; 120 : 198-201.
20. Wang SL, Ohrmund L, Hauenstein S, Salbato J, Reddy R, Monk P, *et al.* Development and validation of a homogeneous mobility shift assay for the measurement of infliximab and antibodies-to-infliximab levels in patient serum. *J Immunol Methods* 2012 ; 382(1-2) : 177-88.