

IVD Wyłącznie do stosowania w diagnostyce in vitro**REF** 0373795
10017205

Przed użyciem należy uważnie przeczytać niniejszą ulotkę informacyjną dołączoną do opakowania systemu mikrosfer do oznaczania ilościowego (Quantitative Microsphere System, QMS). Należy przestrzegać instrukcji zawartych w ulotce. W przypadku nieprzestrzegania instrukcji zawartych w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania nie można zagwarantować wiarygodności wyników testów.

Przeznaczenie

Test QMS Lamotrigine służy do ilościowego oznaczania lamotryginy w surowicy lub osoczu ludzkiej krwi przy użyciu automatycznych analizatorów chemicznych na potrzeby kliniczne.

Monitorowanie stężeń lamotryginy może być pomocne w postępowaniu z pacjentami leczonymi lamotryginą.

Podstawowe informacje i wyjaśnienie działania testu

Lamotrygina [3,5-diamino-6-(2,3-dichlorofenyl)-1,2,4-triazyna] jest lekiem przeciwdrgawkowym zatwierdzonym do stosowania w leczeniu padaczki, często przepisywanym w monoterapii lub jako jeden ze składników terapii wielolekowej.¹⁻³

Zasady postępowania

Test QMS Lamotrigine jest oznaczeniem, w którym wykorzystano homogeniczną metodę immunoturbidymetryczną (particle-enhanced turbidimetric immunoassay, PETIA). Działanie testu jest oparte na współzawodnictwie o miejsca wiążące w odczynniku zawierającym przeciwciała przeciwko lamotryginie pomiędzy lekiem obecnym w próbce a lekiem naniesionym na mikrocząstkę. Przy braku współzawodniczącego leku w próbce odczynnik zawierający mikrocząstkę pokryte lamotryginą ulega szybkiej aglutynacji w obecności odczynnika zawierającego przeciwciała przeciwko lamotryginie. Szybkość zmiany absorbancji jest mierzona metodą fotometryczną. Po dodaniu próbki zawierającej lamotryginę następuje częściowe zahamowanie aglutynacji, zmniejszające szybkość zmian absorbancji. Klasyczną krzywą inhibicji aglutynacji w zależności od stężenia można wyznaczyć na podstawie maksymalnej szybkości aglutynacji przy najniższym stężeniu lamotryginy oraz najniższej szybkości aglutynacji przy najwyższym stężeniu lamotryginy.

Odczynniki**Zestaw odczynników**

Test QMS Lamotrigine (**REF** 0373795, 10017205) jest dostarczany w postaci płynnej jako gotowy do użycia zestaw dwóch odczynników zawierający:

R1	Odczynnik 1	1 × 19 ml
R2	Odczynnik 2	1 × 19 ml

Składniki biorące udział w reakcji

INGRED	Składnik	Stężenie
R1	Przeciwciała poliklonalne przeciwko lamotryginie (owcze)	< 5,0%
	Azydek sodu	≤ 0,09%
R2	Mikrocząstki pokryte lamotryginą	< 1,0%
	Azydek sodu	≤ 0,09%

Postępowanie z odczynnikiem i warunki ich przechowywania

- R1**, **R2** — gotowe do użycia.
- Przed użyciem kilkakrotnie odwrócić, nie dopuszczając do wytworzenia się pęcherzyków powietrza.
- Jeśli we wkładzie zawierającym odczynnik znajdują się pęcherzyki powietrza, należy je usunąć, używając nowego aplikatora. Ewentualnie można pozostawić odczynnik w zalecanej temperaturze i odczekać aż pęcherzyki znikną. Aby ograniczyć do minimum ilość utraconego płynu, do usuwania pęcherzyków powietrza nie należy używać pipety jednoramiennej.
- W przypadku opróżnienia wkładu zawierającego odczynnik **R1** lub **R2** należy wymienić oba wkłady, a następnie sprawdzić kalibrację, używając co najmniej dwóch poziomów materiałów kontrolnych zgodnie z obowiązującymi w laboratorium wymaganiami dotyczącymi kontroli jakości. Jeśli uzyskane wyniki nie mieszczą się w akceptowalnych zakresach, konieczne może być przeprowadzenie ponownej kalibracji.
- W razie przypadkowego rozlania należy posprzątać i zutylizować materiał zgodnie ze standardową procedurą operacyjną obowiązującą w danym laboratorium oraz przepisami lokalnymi i krajowymi, z uwzględnieniem faktu, że materiał zawiera czynniki potencjalnie zakaźne.
- W przypadku otrzymania uszkodzonego opakowania należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem pomocy technicznej (szczegółowe dane kontaktowe można znaleźć na końcu niniejszej ulotki dołączonej do opakowania).

⚠ PRZESTROGA: Obecne w odczynniku pęcherzyki powietrza mogą zakłócać prawidłowe wykrywanie poziomu odczynnika znajdującego się we wkładzie, powodując pobieranie niewystarczającej objętości odczynnika, co z kolei może przekładać się na wyniki testu.

 8°C
2°C — Odczynniki w nieotwartych fiolkach zachowują stabilność do daty ważności określonej na opakowaniu, jeśli są przechowywane w temperaturze od 2°C do 8°C. **Nie wolno zamrażać odczynników ani wystawiać ich na działanie temperatur przekraczających 32°C.**

Ostrzeżenia i środki ostrożności**Środki ostrożności dla użytkowników**

- Do stosowania w diagnostyce in vitro.
- Nie należy mieszać materiałów o różnych numerach partii.

NIEBEZPIECZEŃSTWO: Test QMS Lamotrigine (LTG) zawiera ≤ 0,5% przeciwciał swoistych dla leku oraz ≤ 2,0% albuminy surowicy ludzkiej (HSA).

H317 — Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H334 — Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

Unikać wdychania mgły lub par. Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wyносить poza miejsce pracy. Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. W przypadku niedostatecznej wentylacji stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. W przypadku kontaktu ze skórą: Umyć dużą ilością wody z mydłem. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDYCHOWYCH: W przypadku trudności z oddychaniem, wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do oddechu w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: Skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub lekarzem. Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z przepisami lokalnymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi.

⚠ PRZESTROGA: Niniejszy produkt zawiera składniki uzyskane z materiału ludzkiego i/lub potencjalnie zakaźne. Składniki pozyskiwane z ludzkiej krwi zostały przebadane. Wykazano brak reaktywności dla antygenu HBsAg oraz przeciwciał przeciwko wirusom HIV 1/2 i HCV. Żadna znana metoda badawcza nie może dać całkowitej pewności, że produkty uzyskane z materiału ludzkiego lub nieaktywnych mikroorganizmów nie spowodują przeniesienia zakażenia. Dlatego zaleca się traktować wszystkie produkty uzyskane z materiału ludzkiego jako potencjalnie zakaźne. Podczas ich stosowania należy przestrzegać odpowiednich praktyk w zakresie zapewnienia bezpieczeństwa biologicznego.

Pobieranie próbek i postępowanie z nimi

Do pobierania próbek na potrzeby przeprowadzenia testu QMS Lamotrigine można używać następujących probówek:

	Szkłane	Plastikowe
Surowica	Bez dodatków	- Z silikonem - Do oddzielania surowicy (SST, z żelem) - Z aktywatorem krzepnięcia
Osocze	Z EDTA (K₂)	- Z EDTA (K₂) - Z heparyną litową - Z heparyną sodową - Do oddzielania osocza z heparyną litową (PST, z żelem)

Nie potwierdzono użyteczności innych probówek do pobierania próbek do przeprowadzenia testu QMS Lamotrigine. W przypadku probówek do pobierania surowicy lub osocza należy przestrzegać instrukcji dostarczonych przez producenta.

- Niewłaściwe odwirowanie próbki może być przyczyną uzyskania błędnych wyników.
- Należy zapewnić, aby w próbkach nie było fibryny, czerwonych krwinek ani innych substancji nierozpuszczalnych.
- Osocze lub surowicę należy jak najszybciej po pobraniu oddzielić od komórek, skrzepu lub żelu. Niektóre probówki na surowicę lub osocze mogą nie być odpowiednie do stosowania w testach monitorujących terapeutyczne stężenia leków. Należy sprawdzić informacje podane przez producenta probówek.⁴
- Próbki oddzielone od komórek, skrzepu lub żelu mogą być przechowywane w temperaturze 2–8°C przez okres do jednego tygodnia. Jeśli test ma być przeprowadzony po upływie tygodnia, próbki przed badaniem należy przechowywać w stanie zamrożonym (≤ -10°C). Probki przechowywane w temperaturze od 2 do 8°C przez okres jednego tygodnia lub zamrożone na okres nieprzekraczający czterech tygodni nie wykazują żadnych różnic w wartościach parametrów w porównaniu z próbkami świeżymi (±10% stężenia lamotryginy w punkcie wyjściowym). Należy zadbać o to, aby ograniczyć liczbę cykli zamrażania i rozmrażania.
- Zaleca się, aby próbki przeznaczone do przeprowadzenia testu QMS Lamotrigine pobrać bezpośrednio przed podaniem dawki (poziom minimalny). Najniższe stężenie pozwala uzyskać najbardziej miarodajne informacje na temat terapeutycznego poziomu lamotryginy.^{5,6}

Procedura**Materiały dostarczone**

- QMS Lamotrigine — odczynniki **REF** 0373795, 10017205

Materiały wymagane, ale niedostarczone

- QMS Lamotrigine — kalibratory **REF** 0373787
CAL A–F: A (1 × 2,0 ml); B–F (po 1 × 1,0 ml)
- QMS Lamotrigine — materiały kontrolne **REF** 0374090
Poziom 1–3: po 1 × 2,5 ml

Procedura wykonania testu

Szczegółowy opis przeprowadzania i kalibrowania testu zamieszczono w podręczniku obsługi danego urządzenia.

Procedury rozcieńczania próbek

Używając kalibratora QMS Lamotrigine CAL A (0,0 µg/ml), ręcznie rozcieńczyć próbki zawierające lamotryginę o stężeniu będącym poza zakresem pomiaru testu.

Protokół ręcznego rozcieńczania

Ręczne rozcieńczenie można przeprowadzić w przypadku próbek, w których stwierdzono stężenie lamotryginy powyżej 40,0 µg/ml. W tym celu należy rozcieńczyć próbkę kalibratorem QMS Lamotrigine CAL A (0,0 µg/ml) przed jej przeniesieniem pipetą do pojemnika na próbkę. Wykonane rozcieńczenie musi zapewniać uzyskanie wyników wyższych niż czułość testu (2,0 µg/ml). Aby otrzymać ostateczną wartość stężenia, uzyskaną wartość stężenia należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia ręcznego.

ostateczne stężenie w próbce = wykazane stężenie x współczynnik ręcznego rozcieńczenia

współczynnik ręcznego rozcieńczenia = $\frac{\text{objętość próbki} + \text{objętość kalibratora CAL A}}{\text{objętość próbki}}$

Kalibracja

Test QMS Lamotrigine należy skalibrować, stosując procedurę pełnej (6-punktowej) kalibracji. Aby przeprowadzić pełną kalibrację, należy przetestować kalibratory QMS Lamotrigine A, B, C, D, E oraz dwukrotnie kalibrator QMS Lamotrigine F.

Kalibracja jest konieczna w przypadku każdego nowego numeru partii. Należy zweryfikować krzywą kalibracji, używając co najmniej dwóch poziomów materiałów kontrolnych zgodnie z obowiązującymi w danym laboratorium wymaganiami dotyczącymi kontroli jakości. Jeśli uzyskane wyniki nie mieszczą się w akceptowalnych zakresach, konieczne może być przeprowadzenie ponownej kalibracji.

Uwaga: Kalibrator Lamotrigine CAL A jest kalibratorem próby ślepej dla omawianego testu.

Kontrola jakości

Jeśli ma to zastosowanie, należy sprawdzić dodatkowe wymagania dotyczące kontroli jakości i opis ewentualnych działań korygujących w standardowych procedurach operacyjnych i/lub planach zapewnienia jakości sporządzonych dla danego laboratorium. Wszystkie wymagania z zakresu kontroli jakości należy spełnić zgodnie z wytycznymi lokalnymi i/lub krajowymi oraz z wymogami akredytacyjnymi.

Zalecenia dotyczące materiałów kontrolnych dla testu QMS Lamotrigine:

- Co 24 godziny należy wykonać test dla co najmniej dwóch poziomów materiałów kontrolnych obejmujących zakres zalecanego stężenia.
- Jeśli konieczne jest częstsze monitorowanie materiałów kontrolnych, należy przestrzegać procedur kontroli jakości obowiązujących w danym laboratorium.
- Jeśli wyniki przeprowadzonej kontroli jakości nie mieszczą się w obowiązującym w laboratorium zakresie wartości dopuszczalnych, można podejrzewać nieprawidłowe wyniki pacjenta. W takiej sytuacji należy podjąć działania korygujące.

Wyniki

Wyniki testu QMS Lamotrigine mogą być podawane w µg/ml lub w µmol/l. Aby przeliczyć wyniki oznaczenia lamotryginy podane w µg/ml na µmol/l, należy pomnożyć wartość wyrażoną w µg/ml przez 3,90.⁷

Podobnie jak ma to miejsce w przypadku oznaczania wszystkich analitów, wartość dla lamotryginy należy rozpatrywać w połączeniu z wynikami przeprowadzonych ocen klinicznych i innych procedur diagnostycznych.

Wyniki — kody błędów

Niektóre wyniki mogą zawierać kody błędów. Opisy kodów można znaleźć w podręczniku obsługi określonego urządzenia.

Ograniczenia przeprowadzanej procedury

W populacji ogólnej występuje niewielka ilość przeciwciał heterofilnych wpływających na wynik testu. Mogą one powodować samoistną aglutynację odczynnika zawierającego mikrocząstki, dając błędnie niskie wyniki, które nie są wykrywane.

Na potrzeby diagnostyki wyniki testów należy zawsze analizować w połączeniu z wywiadem chorobowym pacjenta, wynikami badań klinicznych oraz innymi posiadanymi informacjami.

Więcej informacji można znaleźć w częściach POBIERANIE PRÓBEK I POSTĘPOWANIE Z NIMI oraz SZCZEGÓŁOWA CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA w niniejszej ulotce informacyjnej.

Zakres wartości oczekiwanych

Surowica/osocze

Zakres terapeutycznych stężeń lamotryginy nie został odpowiednio ustalony. Według niektórych doniesień literaturowych, docelowy zakres stężeń w stanie stacjonarnym wynosi od 3 do 15 µg/ml.^{2,8} Nie stwierdzono jednak wyraźnej zależności między stężeniami lamotryginy w surowicy a kliniczną odpowiedzią na leczenie.^{7,8} Z uwagi na istnienie osobniczych różnic pomiędzy pacjentami, a także różnic w równocześnie podawanych lekach, obserwowane zakresy stężeń lamotryginy właściwe występowaniu odpowiedzi i braku odpowiedzi w znacznym stopniu zachodziły na siebie, podobnie jak miało to miejsce w przypadku stężeń związanych z opanowaniem napadów i działaniami niepożądanymi.^{1-3, 6-8, 10-15} W jednym z badań największy raportowany średni poziom w surowicy (minimalny) wyniósł 8,8 µg/ml, zaś niecałe 15% pacjentów zgłaszało wystąpienie działań niepożądanych przy stężeniach leku w osoczu wynoszących poniżej 10 µg/ml.⁹ Łagodne lub umiarkowane działania niepożądane częściej występowały u pacjentów ze stężeniami lamotryginy wynoszącymi powyżej 15 µg/ml.^{8,15} Osiągnięcie stężenia stanu stacjonarnego może zająć do siedmiu dni po dojsiu do stabilnej dawki leku.¹

Monitorowanie stężenia lamotryginy nie powinno stanowić jedynej metody postępowania w odniesieniu do leku w ramach terapii. Wynik testu należy rozpatrywać w połączeniu z wynikami przeprowadzonych ocen klinicznych i innych procedur diagnostycznych. Klinicyści powinni skrupulatnie monitorować pacjentów na etapie rozpoczynania leczenia oraz dostosowywania dawkowania. Konieczne może być pobranie wielu próbek, aby określić oczekiwane zróżnicowanie optymalnych stężeń (tj. w stanie stacjonarnym) u poszczególnych pacjentów.

Szczegółowa charakterystyka działania

Poniżej przedstawiono reprezentatywne wyniki działania uzyskane w dostępnym na rynku automatycznym analizatorze chemicznym na potrzeby kliniczne wykorzystującym turbidymetryczną analizę ilościową.

Czułość

Granica oznaczalności (Limit of Quantitation, LOQ)

Granice oznaczalności (LOQ) dla testu QMS Lamotrigine zdefiniowano jako najniższe stężenie leku, dla którego stwierdzono akceptowalne poziomy precyzji pomiędzy testami oraz odzysku (często przyjmuje się współczynnik zmienności (coefficient of variation, CV) < 20% przy odzysku ± 15%). Spulowane próbki surowicy zawierającej lamotryginę pobrane od pacjentów oraz próbki osocza z dodatkiem lamotryginy rozcieńczono i poddawano oznaczeniom wykonywanym przy dwukrotnym powtórzeniu dwa razy na dobę przez okres 5 dni. Następnie przeanalizowano teoretyczne stężenia lamotryginy.

Spulowane próbki surowicy zawierającej lamotryginę pobrane od pacjentów				
Wartość docelowa testu (µg/ml)	1,74	2,75	3,78	4,88
Wartość średnia	1,82	2,68	3,64	4,88
SD	0,09	0,15	0,16	0,30
CV (%)	4,74	5,69	4,30	6,25
Odzysk (%)	104,48	97,27	96,24	100,00

Próbki osocza z dodatkiem lamotryginy			
Wartość docelowa testu (µg/ml)	2,00	2,74	3,54
Wartość średnia	2,21	2,38	3,54
SD	0,07	0,10	0,10
CV (%)	3,21	3,38	2,89
Odzysk (%)	110,69	103,27	100,00

Wyznaczona wartość LOQ to 2,0 µg/ml.

Zakres wyników uzyskiwanych przy użyciu testu

Zakres wartości uzyskiwanych w teście wynosi od 2,0 do 40,0 µg/ml. Wyniki poniżej tego zakresu należy zgłaszać jako < 2,0 µg/ml.

Dokładność

Oznaczenie dokładności poprzez odzysk wykonano poprzez dodanie lamotryginy o farmaceutycznym stopniu czystości do surowicy ludzkiej dającej ujemny wynik w teście na obecność lamotryginy. W pierwszej kolejności przygotowano grawimetrycznie, poprzez dodanie lamotryginy do surowicy ludzkiej, roboczy roztwór surowicy zawierający lamotryginę w stężeniu 40 µg/ml. Następnie stężony roztwór roboczy dodawano grawimetrycznie do surowicy ludzkiej niezawierającej lamotryginy w celu uzyskania stężeń leku pokrywających cały zakres testowy. Każdą próbkę analizowano w trzech powtórzeniach w oparciu o dwie oddzielne krzywe kalibracji przy użyciu automatycznego chemicznego na potrzeby kliniczne. Wyniki uśredniono, porównano ze stężeniem docelowym i obliczono procent odzysku. Uzyskane wyniki przedstawiono poniżej.

$$\text{odzysk (\%)} = \frac{\text{średnie stężenie odzyskane}}{\text{stężenie teoretyczne}} \times 100$$

Stężenie teoretyczne (µg/ml)	Średnie stężenie odzyskane (µg/ml)	Odzysk (%)
40,02	38,61	96
30,02	32,74	109
20,03	19,07	95
15,00	16,05	107
9,00	9,37	104
5,02	5,33	106
3,75	3,94	105
2,50	2,49	100
1,52	1,75	115

Średni procent odzysku: 104

Liniowość

Badania liniowości przeprowadzono, rozcieńczając pulę próbek pobranych od pacjentów, zawierających wysokie stężenia analitu w celu uzyskania stężeń pokrywających cały zakres testowy. Pulę próbek pacjentów dostosowano tak, aby uzyskać wartość o 20–30% większą od pożądanego zakresu raportowanych wartości, zgodnie z sugestią zawartą w protokole NCCLS EP-6A.¹⁶ Rozcieńczeń dokonywano przy użyciu kalibratora QMS Lamotrigine A (kalibrator próby ślepej). Liniowość dla wybranych rozcieńczeń uznawano za akceptowalną, jeśli procentowe odchylenie między przewidywanymi wartościami dla równań regresji I i II stopnia wynosiło ± 10%. Uzyskane wyniki przedstawiono poniżej.

Stężenie teoretyczne (µg/ml)	Średnie stężenie odzyskane (µg/ml)	Odzysk (%)
42,50	43,25	102
37,38	37,67	101
32,26	31,82	99
26,62	27,34	103
21,50	22,26	104
15,87	16,15	102
10,75	10,78	100
5,12	5,19	101
2,56	2,56	100
1,02	1,23	121

Średni procent odzysku: 103

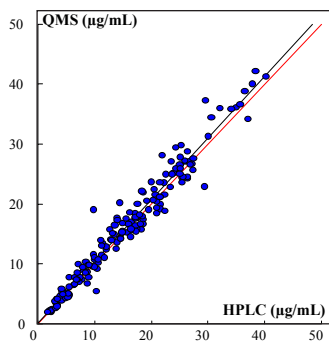
Porównanie metod

Badania korelacji przeprowadzono zgodnie z protokołem NCCLS EP9-A2.¹⁷ Test QMS Lamotrigine wykonywano wewnątrz (Badanie 1) oraz w dwóch różnych ośrodkach zewnętrznych (Badanie 2 i Badanie 3). Wyniki oznaczeń wykonanych z użyciem testu QMS Lamotrigine porównano z wynikami uzyskanymi za pomocą zwalidowanej metody referencyjnej — wysokowydajnej chromatografii cieczowej (high performance liquid chromatography, HPLC).¹⁸

Badanie 1

W pierwszym badaniu zakres stężeń lamotryginy uzyskanych w teście QMS Lamotrigine wyniósł 2,02–43,13 µg/ml przy stężeniu średnim równym 15,98 µg/ml. Zakres stężeń lamotryginy uzyskanych metodą HPLC wyniósł 1,6–40,3 µg/ml przy stężeniu średnim równym 15,3 µg/ml. Poniżej przedstawiono wyniki analizy w oparciu o metodę regresji Passing-Bablok.¹⁹

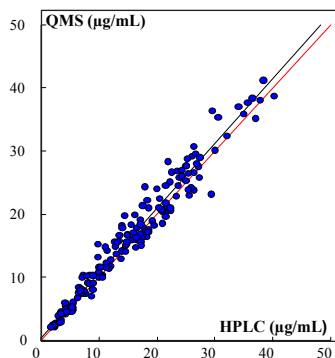
Nachylenie krzywej (95% przedział ufności)	1,03
Punkt przecięcia z osią Y (95% przedział ufności)	0,11
Współczynnik korelacji (R ²)	0,96
Błąd standardowy estymaty	1,98
Liczba próbek	166



Badanie 2

W drugim badaniu zakres stężeń lamotryginy uzyskanych w teście QMS Lamotrigine wyniósł 2,11–41,19 µg/ml przy stężeniu średnim równym 16,11 µg/ml. Zakres stężeń lamotryginy uzyskanych metodą HPLC wyniósł 1,6–40,3 µg/ml przy stężeniu średnim równym 15,3 µg/ml. Poniżej przedstawiono wyniki analizy w oparciu o metodę regresji Passing-Bablok.¹⁹

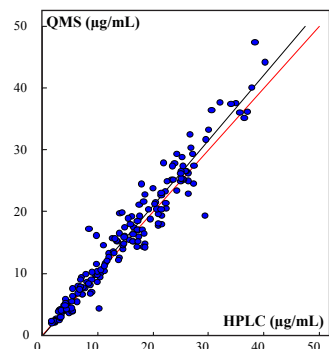
Nachylenie krzywej (95% przedział ufności)	1,03
Punkt przecięcia z osią Y (95% przedział ufności)	0,36
Współczynnik korelacji (R^2)	0,96
Błąd standardowy estymaty	1,92
Liczba próbek	166



Badanie 3

W trzecim badaniu zakres stężeń lamotryginy uzyskanych w teście QMS Lamotrigine wyniósł 2,01–47,31 µg/ml przy stężeniu średnim równym 15,95 µg/ml. Zakres stężeń lamotryginy uzyskanych metodą HPLC wyniósł 1,6–40,3 µg/ml przy stężeniu średnim równym 15,3 µg/ml. Poniżej przedstawiono wyniki analizy w oparciu o metodę regresji Passing-Bablok.¹⁹

Nachylenie krzywej (95% przedział ufności)	1,06
Punkt przecięcia z osią Y (95% przedział ufności)	-0,14
Współczynnik korelacji (R^2)	0,94
Błąd standardowy estymaty	2,44
Liczba próbek	167



Precyzja

Precyzję oznaczono w sposób opisany w protokole NCCLS EP5-A2.²⁰

W każdym z tych badań zastosowano trzy poziomy ogólnodostępny materiał kontrolny wyprodukowany na bazie surowicy ludzkiej i zawierającego lamotryginę, jak również pulę próbek pochodzących od pacjentów, odpowiadające niskim, średnim i wysokim wartościom terapeutycznym. Każdy poziom materiałów kontrolnych oraz pulę próbek oznaczano 2 razy na dobę w 2 powtórzeniach przez 20 nienastępujących po sobie dni. Odstęp pomiędzy poszczególnymi testami wykonywanymi w jednym dniu wynosił co najmniej 2 godziny. Obliczono wartości średnie, standardowe odchylenie pomiędzy kolejnymi dniami, w ramach pojedynczego testu i całkowite, a także procentowy współczynnik zmienności (CV). Uzyskane wyniki przedstawiono poniżej.

Próbka	N	Wartość średnia (µg/ml)	W ramach testu		Pomiędzy poszczególnymi dniami		Całkowite	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Materiał kontrolny — poziom niski	80	2,17	0,04	1,6	0,04	1,2	0,06	2,9
Materiał kontrolny — poziom średni	80	15,51	0,18	1,1	0,18	0,9	0,29	1,9
Materiał kontrolny — poziom wysoki	80	25,57	0,39	1,5	0,26	0,9	0,52	2,0
Pula próbek pacjentów — wartości niskie	80	2,81	0,05	1,6	0,02	0,7	0,08	2,8
Pula próbek pacjentów — wartości średnie	80	10,79	0,10	0,9	0,12	1,1	0,21	2,0
Pula próbek pacjentów — wartości wysokie	80	23,93	0,40	1,7	0,16	0,7	0,58	2,4

Kryteria dopuszczalności: < 10% całkowity współczynnik zmienności

Substancje wpływające na wynik testu

Do surowicy zawierającej znane stężenia lamotryginy (ok. 3 i 16 µg/ml) dodawano klinicznie wysokie stężenia następujących substancji potencjalnie wpływających na wynik testu. Każdą próbkę przebadano za pomocą testu QMS amotrigine wraz z surowicą stanowiącą materiał kontrolny dla lamotryginy. Dla wszystkich substancji błąd wykrywania lamotryginy wynosił < 10%.

Substancja wpływająca na wynik testu	Stężenie substancji wpływającej na wynik testu
Albumina	12 g/dl
Bilirubina	60 mg/dl
Cholesterol	500 mg/dl
Hemoglobina	1500 mg/dl
Gamma-globulina	10 g/dl
Czynnik reumatoidalny*	500 j.m./ml
Trójglicerydy*	1500 mg/dl
Kwas moczowy*	20 mg/dl

* Przygotowane poprzez rozcieńczenie naturalnej próbki od pacjenta za pomocą pul surowicy ludzkiej o znanym stężeniu lamotryginy

Swoistość

Badania wpływu substancji na wynik testu przeprowadzono zgodnie z wytycznymi ujętymi w protokole NCCLS EP7-A2.²¹ Reakcje krzyżowe przebadano dla znanych metabolitów lamotryginy. Przebadano również inne leki rutynowo podawane wraz z lamotryginą w celu ustalenia, czy związki te mają wpływ na ilościowe oznaczenie lamotryginy w teście QMS Lamotrigine. Do pul surowicy zawierających niskie lub wysokie stężenia terapeutyczne lamotryginy wprowadzono te związki o znanych, wysokich stężeniach. Probki zostały oznaczone, a stężenia lamotryginy w próbkach zawierających substancję wpływającą na wynik testu porównano ze stężeniami w surowicy kontrolnej.

Metabolity

Lamotrygina metabolizowana jest przede wszystkim przez UDP-glukuronylotransferazę z wytworzeniem nieaktywnego metabolitu, N-2-glukuronidu.^{22,23} W literaturze postulowano również tworzenie trzech innych, mniej istotnych metabolitów: N-5-glukuronidu N-2-tlenku oraz N-2-metylu.^{22,24} W dawce wydzielanej (głównie z moczem) wyjściowa lamotrygina w postaci niezmienionej stanowiła około 10%. Przybliżone stężenia metabolitów były następujące: N-2-glukuronid (71%), N-5-glukuronid* (9%), N-2-metyl (od 0 do 5%) i N-2-tlenek (od 0 do 5%).^{24,25} Metabolity te dodano do dwóch próbek zawierających niskie i wysokie stężenia lamotryginy (odpowiednio 3 i 16 µg/ml). Reakcje krzyżowe przebadano dla metabolitów wymienionych w tabeli poniżej.

* Postulowany metabolit lamotryginy, N-5-glukuronid, nie był dostępny na potrzeby badań.

Metabolit	Stężenie metabolitu (µg/ml)	Reaktywność krzyżowa (%)	
		Lamotrygina — niskie stężenie	Lamotrygina — wysokie stężenie
N-2-glukuronid	400	0,06	0,30
	80	0,08	1,60
	40	0,23	1,30
	20	NW	6,40
	10	0,40	11,90
	5	-7,90	NW
N-2-metyl	400	0,10	0,20
	80	NW	0,50
	40	-0,10	2,10
	20	-0,40	1,30
	10	-2,00	2,60
	5	-4,70	NW
N-2-tlenek	400	2,20	4,20
	80	4,60	10,70
	40	6,00	15,10
	20	9,60	25,10
	10	13,00	36,50
	5	19,70	92,50

NW = nie wykryto

Wpływ leków

Przeprowadzono badania z zastosowaniem testu QMS Lamotrigine w celu stwierdzenia, czy którekolwiek ze związków powszechnie podawanych wraz z lamotryginą mają wpływ na odzysk stężenia lamotryginy.

Do surowicy ludzkiej zawierającej znane stężenia lamotryginy (ok. 3 i 16 µg/ml) dodawano znane wysokie stężenia każdego związku, a następnie badano wraz z surowicą stanowiącą materiał kontrolny dla lamotryginy. Dla wszystkich związków błąd wykrywania lamotryginy wynosił < 10%. W tabeli poniżej wymieniono te związki oraz przebadane stężenia.

Związek chemiczny	Stężenie związku chemicznego*	Związek chemiczny	Stężenie związku chemicznego*
Acetaminofen	200	Lidokaina	100
Acetazolamid	100	Linkomycyna	2000
Kwas acetylosalicylowy	500	Mefenytolina	100
Amikacyna	20	Mezorydazyna	5
Amitriptylina	1	Metycylina	200
Amoksapina	1	Metylprednizolon	200
Amfoterycyna B	100	N-acetyloprokainamid	120
Ampicylina	50	Nefazodon	3
Kwas askorbinowy	30	Neomycyna	1000
Bupropion	3	Niacyna	12000
Kofeina	100	Nirwanol	100
Karbamazepina	120	Nitrazepam	1,8
10,11-epoksykarbamazepina	120	Nordoksepina	1
Karbencylina	2500	Nortryptylina	1
Chloramfenikol	250	Olanzapina	0,3
Chloropromazyna	2	Okskarbamazepina	500
Citalopram	0,8	Paroksetyna	1
Klobazam	100	Penicylina V	100
Klonazepam	0,7	Perfenazyna	90
Cyklosporyna A	1	Fenytoina	100
Dezypiramina	1	Fenobarbital	15
Diazepam	20	Prymidon	100
Digitoksyna	0,25	Prokainamid	25
Digoksyna	0,02	Prochlorperazyna	1
Doksepina	1	Ranitydyna	200
Siarczan efedryny	1000	Ryfampina	50
Erytromycyna	200	Rysperydon	0,6
Etanol	3500	Sertralina	0,6
Etosuksymid	1000	Spektynomycyna	100
Felbamat	1000	Sulfametoksazol	400
Fluoksetyna	3,75	Teofilina	250
Furosemid	100	Tiorydazyna	5
Gabapentyna	200	Tobramycyna	20
Gentamycyna	1000	Topiramet	250
Haloperidol	1	Trazodon	5
Heparyna	8000 j.m./l	Trimetoprim	20
Ibuprofen	400	Kwas walproinowy	1000
Imipramina	0,72	Wankomycyna	630
Kanamycyna A	400	Wigabatryna	100
Kanamycyna B	400	Zonisamid	400
Lewetyracetam	400		

* µg/ml, chyba że wskazano inaczej

Písmennictwo

1. FDA approved labeling text for NDA 20-764S-005 and NDA 20-241S-011 dated 5/25/01 for Glaxo Wellcome Inc.
2. Matsuo F. Lamotrigine. *Epilepsia* 1999;40(Suppl 5):S30-6.
3. Hachad H, Ragueneau-Majlessi I, Levy RH. New antiepileptic drugs: review on drug interactions. *Ther Drug Monit* 2002;24(1):91-103.
4. Dasgupta A, Dean R, Saldana S, et al. Absorption of therapeutic drugs by barrier gels in serum separator blood collection tubes. *Am J Clin Pathol* 1994;101(4):456-61.
5. Moyer TP, Pippenger CE. Therapeutic Drug Monitoring. In: Burtis AC, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry, Second Edition*. Philadelphia, PA. WB Saunders, 1994;1094-110.
6. Patsalos PN, Fröscher W, Pisani F, van Rijn CM. The importance of drug interactions in epilepsy therapy. *Epilepsia* 2002;43(4):365-85.
7. Johannessen SI, Battino D, Berry DJ, et al. Therapeutic drug monitoring of the newer antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit* 2003;25(3):347-63.
8. Johannessen SI, Tomson T. Pharmacokinetic Variability of Newer Antiepileptic Drugs: When is Monitoring Needed? *Clin Pharmacokinet* 2006;45(11):1061-75.
9. Hirsch LJ, Weintraub D, Du Y. Correlating lamotrigine serum concentrations with tolerability in patients with epilepsy. *Neurology* 2004;63:1022-26.
10. Besag FMC, Berry DJ, Pool F, et al. Carbamazepine toxicity with lamotrigine: pharmacokinetic or pharmacodynamic interaction? *Epilepsia* 1998;39(2):183-7.
11. Eriksson A-S, Hoppu K, Nergårdh A, Boreus L. Pharmacokinetic interactions between lamotrigine and other antiepileptic drugs in children with intractable epilepsy. *Epilepsia* 1996;37(8):769-73.
12. May TW, Rambeck B, Jürgens U. Serum concentrations of lamotrigine in epileptic patients: the influence of dose and comedication. *Ther Drug Monit* 1996;18(5):523-31.
13. Yau MK, Wargin WA, Wolf KB, et al. Effect of valproate on the pharmacokinetics of lamotrigine (Lamictal) at steady state. *Epilepsia* 1992;33 (Suppl 3):82.
14. Besag FMC, Berry DJ, Pool F. Methsuximide lowers lamotrigine blood levels: a pharmacokinetic antiepileptic drug interaction. *Epilepsia* 2000;41(5):624-7.
15. Besag, FM, Craven P, Berry DJ. The Role of Blood Level Monitoring in Assessing Lamotrigine Toxicity. *Epilepsia* 1998;36(s6):131.
16. Tholen DW, Kroll M, Astles JR, et al. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline (EP6-A)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2003.
17. Krouwer JS, Tholen DW, Garber CC, et al. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition (EP9-A2)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002.
18. Berry DJ, Wicks JFC, Clarke LA. Determination of Lamotrigine 3,5-diamino-6-(2,3-dichlorophenyl)-1,2,4-triazine at therapeutic concentrations in plasma by reversed phase HPLC. HPLC'92 (abstract no. 183).
19. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26(11):783-90.
20. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition (EP5-A2)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
21. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. *Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline-Second Edition (EP7-A2)*. Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2005.
22. Green MD, Bishop WP, Tephly TR. Expressed human UGT1.4 protein catalyzes the formation of quaternary ammonium-linked glucuronides. *Drug Metab Dispos* 1995;23(3):299-302.
23. Sandson NB, Armstrong SC, Cozza KL. An overview of psychotropic drug-drug interactions. *Psychosomatics* 2005;46(5):464-85.
24. Doig MV, Clare RA. Use of thermospray liquid chromatography-mass spectrometry to aid in the identification of urinary metabolites of a novel antiepileptic drug, lamotrigine. *J Chromatogr* 1991;554:181-9.
25. Dickens M, Chen C. Lamotrigine: chemistry, biotransformation, and pharmacokinetics. In: Levy RH, Mattson RH, Meldrum BS, Perucca E, eds. *Antiepileptic drugs*, 5th ed. New York: Raven Press, 2002:370-9.



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
USA — Wsparcie dla klientów i
pomoc techniczna:
1-800-232-3342



Microgenics GmbH
Spitalhofstrasse 94
D-94032 Passau, Germany
Tel.: +49 (0) 851 886 89 0
Faks: +49 (0) 851 886 89 10



Aktualną wersję ulotki można pobrać z witryny:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Inne kraje:

Należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Thermo Fisher Scientific.

© 2015 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

Wszystkie znaki towarowe stanowią własność firmy Thermo Fisher Scientific i spółek od niej zależnych.

0155192-H-PL
2015 09

Thermo
SCIENTIFIC