

ARK™ Topiramate Assay

Lesen Sie diesen ARK Diagnostics Inc Beipackzettel von. für den ARK Topiramate-Test vor der Verwendung sorgfältig durch. Beachten Sie die Anweisungen des Beipackzettels. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nicht garantiert werden, wenn von den Anweisungen auf dem Beipackzettel abgewichen wird.

Kundenservice













48089 Fremont Blvd
 Fremont, CA 94538 USA
 Tel: 1-877-869-2320
 Fax: 1-510-270-6298
 customersupport@ark-tdm.com
 www.ark-tdm.com



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP Den Haag
 Niederlande

Verwendete Symbole

	Chargenkennzeichnung	 JJJJ-MM-TT	Verwendbar bis/Verfallsdatum
	Katalognummer		Hersteller
	Authorisierte EU-Vertretung		CE-Zeichen
	Medizinprodukt zur in-vitro-Diagnostik		Temperaturgrenzen
	Lesen Sie die Gebrauchsanweisung durch.		Reagenz 1/Reagenz 2
Rx Only	Verschreibungspflichtig		

1 Name

ARK™ Topiramate Assay

2 Verwendungszweck

Der ARK Topiramate-Test ist ein homogener Enzymimmuntest zur quantitativen Bestimmung von Topiramats in Humanserum oder Plasma auf automatisierten, klinischen Analysegeräten. Topiramate-Konzentrationen können als Hilfe zur Einstellung von mit Levetiracetam behandelten Patienten verwendet werden.

3 Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Topiramate (**2,3:4,5-Di-O-Isopropyliden-B-D-fructopyranosesulfamat**) ist ein krampflösendes Medikament, das zur Behandlung von Epilepsie zugelassen ist und oft als Monotherapie oder als eine Komponente einer Epilepsitherapie mit mehreren Medikamenten verschrieben wird.¹

4 Grundlagen des Verfahrens

Der ARK Topiramate-Test ist ein homogener Enzymimmuntest, bei dem der Wirkstoff in der Probe mit einem mit dem Enzym Glucose-6-Phosphatdehydrogenase (G6PDH) markierten Topiramate-Epitop um die Bindung an dem Antikörperreagenz konkurriert. Wenn Letzteres den Antikörper bindet, sinkt die Enzymaktivität. Ist in der Probe das Medikament vorhanden, erhöht sich die Enzymaktivität direkt proportional zur Wirkstoffkonzentration. Das aktive Enzym wandelt das Koenzym Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid (NAD) in NADH um, das spektrophotometrisch als Absorptionsänderung gemessen wird. Das endogene G6PDH im Serum stört die Ergebnisse nicht, da das Koenzym NAD nur mit dem bakteriellen Enzym funktioniert, das in diesem Test verwendet wird.

5 Reagenzien


REF	Produktbeschreibung	Anzahl/ Volumen
5015-0001-00	ARK™ Topiramate Assay Reagenz [R1] -- Antikörper/Substrat Polyklonaler Kaninchen-Antikörper* für Topiramate, Glukose-6-Phosphat, Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid, bovines Serumalbumin, Konservierungsmittel und Stabilisatoren	1 X 28 mL
	Reagenz [R2] -- Enzym Mit bakteriellem G6PDH markiertes Topiramate-Epitop, Puffer, bovines Serumalbumin, Konservierungsmittel und Stabilisatoren	1 X 14 mL

*Antikörper werden selektiv an einer epitopischen funktionellen Gruppe des Topiramats produziert.

Reagenz, Transport und Lagerung

Die Reagenzien für den ARK Topiramate -Test werden als gebrauchsfertige Flüssigkeit geliefert und können direkt aus dem Kühlschrank verwendet werden. Werden die Reagenzien nicht verwendet, müssen sie bei 2–8 °C aufrecht und mit sicher verschlossenem Schraubdeckel gelagert werden. Bei Lagerung entsprechend den Anweisungen sind die Reagenzien bis zum auf dem Etikett aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Frieren Sie die Reagenzien nicht ein. Vermeiden Sie längeren Einfluss von Temperaturen über 32 °C. **Eine falsche Lagerung der Reagenzien kann die Testleistung beeinträchtigen.**

6 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Zur *In-vitro-Diagnostik*.
- Die Reagenzien  und  werden als zusammengehöriger Satz geliefert und dürfen nicht mit Reagenzien anderer Chargennummern verwendet werden.

7 Probenentnahme und Vorbereitung für die Analyse

- Benötigt wird Serum oder Plasma. Proben, die nach Einstellung einer konstanten Dosis (trough pre-dose) abgenommen worden sind, haben sich als konsistenteste Form zur therapeutischen Medikamenten-überwachung von Topiramate bewährt. Die Zeit zwischen der letzten Medikamentengabe und der Blutentnahme sollten notiert werden.
- Vollblut kann nicht verwendet werden. Mit diesem Test dürfen die folgenden Antigerinnungsmittel verwendet werden.
 - Natrium-Heparin
 - Lithium-Heparin
 - Kalium-EDTA
- VERWENDEN SIE KEINE GELSEPARATOREN.
- Vermeiden Sie Schaumbildung und ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen, um die Integrität der Proben von der Entnahme bis zum Zeitpunkt der Analyse zu bewahren.
- Fibrin, rote Blutkörperchen und andere Partikel können fehlerhafte Ergebnisse verursachen. Achten Sie auf eine angemessene Zentrifugation.
- Geklärte Proben können bis zu einer Woche bei 2-8 °C gelagert werden. Wenn die Messung mehr als eine Woche später erfolgen soll, sollten die Proben tiefgefroren werden (≤ -10 °C bis zu vier Wochen), bevor sie getestet werden. Die Anzahl der Einfrier- und Auftauzyklen sollten Sie auf ein Minimum begrenzen.
- **Behandeln Sie alle Patientenproben so, als wären sie infektiöses Material.**

8 Vorgehensweise

Mitgelieferte Materialien

ARK Topiramate-Test – **REF** 5015-0001-00

Benötigte Materialien – separate Bestellung

ARK Topiramate-Kalibrator – **REF** 5015-0002-00

Qualitätskontrollen – ARK Topiramate -Kontrolle – **REF** 5015-0003-00

Geräte

Reagenzien **R1** und **R2** können vor der Verwendung in gerätespezifische Reagenzbehälter umgefüllt werden. Vermeiden Sie eine Kreuzkontamination von **R1** und **R2**.

Testsequenz

Zum Start bzw. zur Kalibrierung des Tests finden Sie Informationen in dem Benutzerhandbuch des betreffenden Gerätes.

Kalibrierung

Führen Sie eine vollständige 6-Punkt-Kalibrierung mit den ARK Topiramate-Kalibratoren A, B, C, D, E und F durch. Testen Sie die Kalibratoren in Zweifachbestimmung. Die Kalibrierung ist für jede neue Reagenzkit-Chargennummer erforderlich. Überprüfen Sie die Kalibrationskurve mit mindestens zwei Qualitätskontrollkonzentrationen entsprechend dem festgelegten Laborplan zur Qualitätssicherung. CAL A ist der Nullkalibrator.

Zeitpunkt der Neukalibrierung

- Immer dann, wenn eine neue Chargennummer der Reagenzien verwendet wird.
- Wenn dies aufgrund der Ergebnisse der Qualitätskontrolle angezeigt ist.
- Wenn dies entsprechend den Standardlaborprotokollen vorgeschrieben ist.

Qualitätskontrolle (QC)

Labors sollten für den ARK Topiramate-Test Qualitätskontrollverfahren festlegen. Alle Forderungen zur Qualitätskontrolle und zum Test sollten unter Berücksichtigung der lokalen, Landes- und Bundesvorschriften oder Zulassungsforderungen durchgeführt werden.

In der Laborpraxis hat es sich bewährt, dass mindestens zwei Konzentrationen (unterer und oberer medizinischer Entscheidungspunkt) der Qualitätskontrolle an jedem Tag getestet werden, an denen Patientenproben analysiert werden und jedes Mal, wenn eine Kalibrierung durchgeführt wird. Überwachen Sie die Kontrollwerte auf Trends oder Abweichungen. Wenn Sie Trends oder Abweichungen erkennen oder eine Wiederfindung innerhalb des definierten Kontrollbereiches nicht möglich ist, prüfen Sie alle Betriebsparameter entsprechend den Qualitätsverfahren Ihres Labors. Weitere Unterstützung erhalten Sie vom Kundendienst.

Manuelles Verdünnungsprotokoll

Um die Wirkstoffkonzentrationen in Proben zu bestimmen, bei denen die Konzentration höher ist als der obere Quantifizierungsgrenzwert 60 µg/mL, verdünnen Sie die Probe mit dem Nullkalibrator (CAL A). Multiplizieren Sie das Testergebnis mit dem Verdünnungsfaktor.

$$\text{Manueller Verdünnungsfaktor} = \frac{\text{Volumen der Probe} + \text{Volumen des Kalibrators CAL A}}{\text{Probenvolumen}}$$

9 Ergebnisse

Geben Sie das Ergebnis in µg/mL oder µmol/L an. Multiplizieren Sie zur Umrechnung der Ergebnisse aus µg/mL Topiramate in µmol/L Topiramate den Wert in µg/mL mit 2,95. Der Topiramate-Wert aus diesem Test sollte zusammen mit anderen klinischen Informationen verwendet werden. Für Fehlercodes, die mit dem Testergebnis ausgegeben werden, konsultieren Sie das gerätespezifische Benutzerhandbuch.

10 Einschränkungen des Verfahrens

Dieser Test ist nur für die Nutzung mit Serum oder Plasma vorgesehen; weitere Informationen finden Sie im Abschnitt **Probenentnahme und Vorbereitung auf die Analyse** sowie **Spezifische Leistungsmerkmale**.

11 Erwartete Werte

Ein therapeutischer Bereich für Topiramate wurde noch nicht genau definiert. Der vorgeschlagene therapeutische Bereich (Trough-Probe) zur Krampfkontrolle liegt bei 2 bis 25 µg/mL; es gibt keine exakte Korrelation zwischen den Topiramatspiegeln im Blut, der Toxizität, Nebenwirkungen oder der klinischen Wirksamkeit.² Daher sollte bei den Patienten die Topiramate-Konzentration überwacht werden.

Die Topiramate-Konzentrationen sollten in Zusammenhang mit Informationen aus klinischen Untersuchungen und sonstigen Diagnoseverfahren verwendet werden. Die Ärzte sollten die Patienten bei Beginn der Therapie und bei Anpassung der Dosis sorgfältig überwachen. Die Pharmakokinetik kann deutlich abweichen, insbesondere bei Begleitmedikation, eingeschränkter Nierenfunktion und in Abhängigkeit vom Alter. Bei einzelnen Patienten kann es erforderlich sein, im Laufe der Zeit mehrere Proben zu nehmen, um konstante Konzentrationen zu bestimmen.

12 Spezifische Leistungsmerkmale

Die Daten sind repräsentativ für automatische klinische Analysegeräte. Jedem Labor obliegt die Überprüfung der Leistungsmerkmale mit den für das Analysegerät festgelegten Geräteparametern. Die folgenden Leistungsmerkmale wurden auf einem System von Roche/Hitachi 917 ermittelt.

Empfindlichkeit

Quantifizierungsgrenze (LOQ)

Das LOQ für den ARK Topiramate-Test wurde entsprechend CLSI EP17-A bestimmt und ist als die niedrigste Konzentration definiert, bei der eine akzeptable Testgenauigkeit und Wiederfindung beobachtet wurde (≤ 20 % CV bei einer Wiederfindung von ± 15 %). Das LOQ wurde mit 1,5 µg/mL bestimmt und kann von den Leistungsmerkmalen des Analysegeräts ab.

Messbereich

Der Messbereich beträgt 1,5 bis 54,0 µg/mL. Melden Sie Ergebnisse unterhalb dieses Bereichs von $< 1,5$ µg/mL oder unterhalb des analysegerätspezifischen unteren LOQ, den Ihr Labor festgesetzt hat. Melden Sie Ergebnisse oberhalb dieses Bereichs von $> 54,0$ µg/mL oder oberhalb des oberen analysegerätspezifischen LOQ, den Ihr Labor festgesetzt hat.

Wiederfindung

Die Genauigkeit (analytische Wiederfindung) wurde durch Zusatz des konzentrierten Wirkstoffs Topiramate in Topiramate-freies humanes Serum erreicht. Eine Stocklösung konzentrierten, hochreinen Topiramate wurde Topiramate-freiem Humanserum zugesetzt, um Medikamentenkonzentrationen über den gesamten Messbereich zu erhalten. 6 Replikate jeder Probe wurden auf einem automatisierten klinischen Analysegerät gemessen. Aus den Ergebnissen wurde der Mittelwert gebildet und mit der Sollkonzentration die prozentuale Wiederfindung berechnet. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefasst

$$\% \text{ Prozentuale Wiederfindung} = \frac{100 \times \text{mittlere wiedergefundene Konzentration}}{\text{Theoretische Konzentration}}$$

Theoretische Konzentration (µg/mL)	Wiedergefundener Konzentration Mittelwert (µg/mL)	Prozentuale Wiederfindung
1,5	1,4	95,6
2,5	2,7	106,7
4,0	4,2	104,2
5,0	5,3	106,0
6,0	6,4	106,7
10,0	10,4	103,8
15,0	15,5	103,4
30,0	30,8	102,6
45,0	47,3	105,0
55,0	58,9	107,1

Linearität

Es wurden Linearitätsstudien entsprechend den Empfehlungen des CLSI/NCCLS Protokolls EP6-A durchgeführt. Es wurde eine Serumprobe von 60,0 µg/mL vorbereitet und proportional mit Topiramat-freiem humanem Serum verdünnt. Die Topiramat-Konzentrationen lagen zwischen 0,6 und 60,0 µg/mL. Die Linearität bei spezifischen Verdünnungen gilt als akzeptabel, wenn die prozentuale Differenz zwischen den prognostizierten Regressionswerten 1. und 2. Ordnung bei ±10 % liegt. Es wurde eine lineare Beziehung im Bereich zwischen 1,2 und 54,0 µg/mL nachgewiesen. Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengefasst

Geschätzter Wert (µg/mL)	Ergebnisse (µg/mL)	Prognostizierte Ergebnisse 1. Ordnung	Prognostizierte Ergebnisse 2. Ordnung	Differenz in %
0,6	0,5	0,56	0,46	-18,14
1,2	1,0	1,19	1,10	-7,42
1,8	1,7	1,83	1,75	-4,16
2,4	2,4	2,46	2,40	-2,60
3,0	3,0	3,09	3,04	-1,68
3,6	3,7	3,73	3,69	-1,09
4,2	4,4	4,36	4,33	-0,68
4,8	4,9	4,99	4,98	-0,38
5,4	5,8	5,63	5,62	-0,15
6,0	6,3	6,26	6,26	0,02
12,0	12,9	12,60	12,68	0,64
18,0	18,9	18,94	19,06	0,66
24,0	25,5	25,28	25,41	0,53
30,0	31,4	31,61	31,72	0,33
36,0	37,9	37,95	37,99	0,11
42,0	44,8	44,29	44,23	-0,14
48,0	50,7	50,63	50,43	-0,39
54,0	56,5	56,96	56,60	-0,65
60,0	62,3	63,30	62,73	-0,91

Methodenvergleich

Korrelationsstudien wurden nach CLSI/NCCLS-Protokoll EP9-A2 durchgeführt. Die Ergebnisse des ARK Topiramat-Tests wurden mit den Ergebnissen handelsüblicher FPIA Immunotests verglichen. Die Topiramat-Konzentrationen lagen zwischen 1,5 µg/mL und 53,4 µg/mL. Die Ergebnisse der Passing-Bablok⁴-Regressionsanalyse für die Studie finden Sie weiter unten.

Steigung	0,99
y- Schnittpunkt	-0,17
Korrelationskoeffizient (r ²)	0,99
Anzahl Proben	113

Genauigkeit

Die Genauigkeit wurde wie in dem CLSI/NCCLS-Protokoll EP5-A2 beschrieben bestimmt. Für die Studie wurden Topiramat-Kontrollen mit drei verschiedenen Konzentrationen verwendet. Jede Kontrollkonzentration wurde viermal zweimal täglich zwanzig Tage lang getestet. Zwischen jedem der Durchläufe pro Tag lagen mindestens zwei Stunden. Es wurden die Werte innerhalb der Durchläufe, zwischen den Tagen, der Gesamt-SD-Wert und die prozentualen CVs berechnet. Die Ergebnisse finden Sie hier. Akzeptanzkriterien: <10 % Gesamt-CV.

Probe	N	Mittelwert (µg/mL)	Innerhalb der Durchläufe		Zwischen den Tagen		Insgesamt	
			SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
1	160	2,4	0,08	3,4	0,05	2,0	0,10	4,3
2	160	10,2	0,24	2,4	0,14	1,4	0,28	2,7
3	160	40,2	1,19	2,9	0,64	1,6	1,29	3,2

Störende Substanzen

Studien zu störenden Substanzen wurden nach dem CLSI/NCCLS-Protokoll EP7-A2 als Richtlinie durchgeführt. Getestet wurden klinisch hohe Konzentrationen folgender potenziell störender Substanzen in Serum mit bekannten Topiramat-Konzentrationen (zwischen 5 und 20 µg/mL). Jede Probe wurde mit dem ARK-Topiramat-Test gemessen, zusätzlich wurde eine Topiramat-Serumkontrolle getestet. Bei der Topiramat-Bestimmung ergab sich in Gegenwart der störenden Substanzen bei den getesteten Konzentrationen ein Fehler von ≤10 %.

Störender Stoff	Störender Stoff Konzentration
Albumin	12 g/dL
Bilirubin	60 mg/dL
Cholesterol	301 mg/dL
Gamma-Globulin	10 g/dL
Hämoglobin	1000 mg/dL
Heparin	200 Einheiten/mL
Rheumafaktor	1000 IU/mL
Triglyceride	1105 mg/dL
Harnsäure	25 mg/dL

Spezifität

Die Kreuzreaktivität wurde für ein bekanntes Topiramat-Abbauprodukt getestet. Andere routinemäßig zusammen mit Topiramat und Mitteln gegen Epilepsie verabreichte Medikamente wurden ebenfalls getestet, um zu prüfen, ob diese Verbindungen die Quantifizierung der Zonisamid-Konzentrationen im ARK Topiramat-Test verändern. Hohe Konzentrationen dieser Verbindungen führten zu Spikes in Serumpools mit niedrigen (5 µg/mL) und hohen (20 µg/mL) therapeutischen Topiramat-Konzentrationen. Die Proben wurden analysiert und die Topiramat-Konzentrationen der Proben mit dem störenden Stoff mit dem Kontrollserum verglichen.

Abbauprodukte

Abbauprodukte des Topiramats finden sich vor allem im Urin von Patienten, die mit Topiramat behandelt werden.³ ARK Topiramat-Testserum und Plasmaergebnisse dürften kaum durch die Abbauprodukte des Wirkstoffs Topiramat betroffen sein, da die Plasmapwerte der Abbauprodukte in der Regel klinisch nicht signifikant sind. Das folgende Abbauprodukt wurde auf Kreuzreaktivitäten getestet.

Abbauprodukt	Abbauprodukt Konz. (µg/mL)	Prozentuale Kreuzreaktivität		Prozentuale Störung	
		Topiramat niedrig	Topiramat hoch	Topiramat niedrig	Topiramat hoch
9-Hydroxy-Topiramat	40,0	1,2	1,6	8,6	3,2

Gegenseitige Beeinflussung von Wirkstoffen

Der Topiramats-selektive Antikörper zeigte keine Kreuzreaktivität mit anderen getesteten Wirkstoffen gegen Epilepsie bzw. gleichzeitig verabreichten Wirkstoffen. Eine hohe Konzentration jeder Verbindung wurde im normalen Humanserum mit Spikes für bekannte Topiramats-Konzentrationen (etwa 5 und 20 µg/mL) markiert und mit einer Topiramats-Serumkontrolle getestet. Die Messung des Topiramats ergab einen Fehler von ≤10 % bei Gegenwart der Wirkstoff-Verbindungen mit den getesteten Konzentrationen.

Verbindung	Konzentration (µg/mL)	Verbindung	Konzentration (µg/mL)
Acetaminophen	50	Levetiracetam	200
Acetazolamid	50	Methysergid	100
Alprazolam	20	Metoprolol	100
Amitriptylin	10	Nadolol	150
Acetylsalicylsäure	100	Naproxen	600
Atenolol	50	Nimodipin	100
Coffein	100	Nortriptylin	10
Carbamazepin	100	Oxcarbazepin	50
Chlorthalidon	100	Phenelzin	15
Clonazepam	50	Phenobarbital	40
Clorazepat	20	Phenytoin	50
Diazepam	50	Primidon	100
Dichlorphenamid	40	Protriptylin	20
Ethosuximid	500	Salicylsäure	750
Famotidin	50	Sulfanilamid	2000
Felbamate	500	Tiagabin	200
Flurazepam	20	Tolbutamid	750
Furosemid	10	Valproinsäure	200
Gabapentin	100	Verapamil	100
Hydrochlorothiazid	60	Vigabatrin	150
Ibuprofen	500	Zonisamid	200
Lamotrigin	100		

13 Bezugnahmen


1. OrthoMcNeil Pharmaceutical, Inc. *Topamax*® monograph, Raritan, NJ Revision Date August 2004; www.topamax.com
2. Johannessen, S. I. et al. 2003. Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Antiepileptic Drugs. *Ther Drug Monit.* 25:347-63.
3. Britzi M, Perucca E, Soback S. et al. 2005. Pharmacokinetic and Metabolic Investigation of Topiramate Disposition in Healthy Subjects in the Absence and in the Presence of Enzyme Induction by Carbamazepine. *Epilepsia* 46:378-84.
4. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. 1988. 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* 26(11):783-90.

14 Marken

ARK™ ist eine Marke der ARK Diagnostics, Inc.

Sonstige Marken oder Produktnamen sind Marken der betreffenden Inhaber.

U.S. Patent No. 5,952,187

 ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Gedruckt in den USA
Überarbeitet Februar 2017
1600-0105-00DE Rev 05