

ARK™ Methotrexate Assay

Dette metodearket fra ARK Diagnostics, Inc. for ARK Methotrexate Assay må leses nøye før bruk. Instruksjonene i metodearket må følges til punkt og prikke. Det kan ikke garanteres at analyseresultatene er pålitelige hvis det er noen avvik fra instruksjonene i dette metodearket.

Kundeservice














ARK Diagnostics, Inc.

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



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP Haag
 Nederland

Symbolforklaring

	Lotnummer	 YYYY-MM-DD	Utløpsdato / best før-dato
	Katalognummer		Produsent
	Autorisert representant		CE-merke
	For bruk til in vitro-diagnostikk		Temperaturbegrensning
	Se brukerveiledningen	 	Reagens 1 / reagens 2
Rx Only	Kun til foreskrevet bruk		

1 Navn

ARKTM Methotrexate Assay

2 Tilsiktet bruk

ARK Methotrexate Assay er en homogen enzym-immunologisk analyse til kvantitativ bestemmelse av metotreksat i humant serum eller plasma på automatiserte klinisk-kjemiske analyseinstrumenter. De oppnådde målingene brukes til å overvåke nivåer av metotreksat for å sikre riktig behandling.

Prøver fra pasienter som har fått glukarpidase (karboksypeptidase G2) som en høydose metotreksat redningsterapi bør ikke testes med ARK Methotrexate Assay.

3 Sammendrag og forklaring av analysen

Metotreksat [N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridiny]metyl]metylamino]benzoyl]-L-glutaminsyre], tidligere Ametopterin, er en antimetabolitt som brukes i behandlingen av visse neoplastiske sykdommer, alvorlig psoriasis og revmatoid artritt hos voksne.¹⁻³ Metotreksat har potensial for alvorlig toksisitet. Pasienter som gjennomgår metotreksatbehandling, skal overvåkes nøye slik at toksiske virkninger påvises umiddelbart. Ta hensyn til retningslinjer for metotreksatbehandling med leukovorinredning.¹ Middels til høye doser metotreksat (ca. 35 mg/m² – 12 g/m²) med leukovorinredning (citrovorum-faktor) har blitt brukt med gunstige resultater i behandling av osteogent sarkom, leukemi, non-Hodgkins lymfom, lunge- og brystkreft.⁴⁻⁸

4 Metodeprinsipp

ARK Methotrexate Assay er en homogen immunologisk analyse som er basert på konkurranse mellom medikament i prøven og metotreksat merket med enzymet glukose-6-fosfatdehydrogenase (G6PDH) for binding til antistoffreagenset. Etersom sistnevnte binder antistoff, avtar enzymaktiviteten. I nærvær av medikament fra prøven, øker enzymaktiviteten og er direkte proporsjonal med medikamentkonsentrasjonen. Aktivt enzym omdanner koenzymet nikotinamidadenindinukleotid (NAD) til NADH, som måles spektrofotometrisk som en endring i absorbans. Endogent serum-G6PDH interferer ikke med resultatene, ettersom koenzymet NAD kun reagerer med det bakterielle enzymet som brukes i analysen.

5 Reagenser

REF	Produktbeskrivelse	Mengde/volum
5026-0001-00	ARK Methotrexate Assay	
5026-0001-02	Reagens R1 – antistoff/substrat polyklonale antistoffer fra kanin mot metotreksat, glukose-6-fosfat, nikotinamidadeninukleotid, bovint serumalbumin, konserveringsmiddel og stabilisatorer	1 x 16 mL
5026-0001-03	Reagens R2 – enzym metotreksat merket med bakterielt G6PDH, bovint serumalbumin, konserveringsmiddel og stabilisatorer	1 x 8 mL

Reagenshåndtering og -oppbevaring

ARK Methotrexate Assay-reagenser leveres flytende, klare til bruk, og kan brukes direkte fra kjøleskapet. Når de ikke er i bruk, må reagenser oppbevares ved 2–8 °C, stående og med lokket godt lukket. Hvis de oppbevares som anvist, er reagenser stabile til utløpsdatoen trykt på etiketten. Reagenser må ikke fryses. Unngå langvarig eksponering for temperaturer over 32 °C. **Feil oppbevaring av reagenser kan påvirke ytelseevnen til analysen.**

6 Advarsler og forholdsregler

- Til **in vitro-diagnostisk** bruk. Kun til foreskrevet bruk.
- Reagens R1 og R2 leveres som en samlet enhet og skal ikke blandes med reagenser fra forskjellige lotnumre.

7 Prøvetaking og -forberedelse for analyse

- Serum eller plasma er nødvendig. Det er god praksis å bruke samme prøvematriks for individuelle pasienter for å oppnå ensartethet.
- Prøvetakingstidspunktet for metotreksat vil avhenge av dose, infusjonsvarighet og pasientens kliniske status. Se spesifikke behandlingsprotokoller for prøvetakingstidspunkt.
- Det er ikke mulig å bruke fullblod. Følgende antikoagulasjonsmidler kan brukes med denne analysen.
 - Natriumheparin
 - Litiumheparin
 - Kalium-EDTA
- Prøvetaking må utføres med prøvetakingsrør som er kompatible for bruk med terapeutisk medikamentmonitorering (TDM).
- Unngå skumdannelse, og unngå gjentatt frysing og tining, for å bevare prøvens integritet fra prøvetaking til analysering.
- Fibrin, røde blodlegemer og andre partikler kan gi et feilaktig resultat. Sikre tilstrekkelig sentrifugering.
- Prøver som er klaret, kan oppbevares i opptil to uker ved 2 til 8 °C. Hvis analysering vil bli forsinket, kan prøver oppbevares frosset ved (≤ -10 °C) før

analysering. Det er viktig å begrense antall fryse/tine-sykluser. Prøver har vist seg å tåle 3 fryse/tine-sykluser når de oppbevares ved $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- **Håndter alle pasientprøver som potensielt infeksiose.**

8 Prosedyre

Medfølgende materialer

ARK Methotrexate Assay – **REF** 5026-0001-00

ARK Methotrexate Assay, Roche[®] cobas c pack – **REF** 5026-0001-02

ARK Methotrexate Assay, Roche[®] cobas c pack green – **REF** 5026-0001-03

Nødvendige materialer – leveres separat

ARK Methotrexate Calibrator – **REF** 5026-0002-00

Kvalitetskontroller – ARK Methotrexate Control – **REF** 5026-0003-00

ARK Methotrexate Dilution Buffer – **REF** 5026-0004-00

Instrumenter

Det kan være nødvendig å overføre reagens **R1** og **R2** til analyseinstrumentspesifikke reagensflasker før bruk. Unngå krysskontaminering av **R1** og **R2**.

Analysesekvens

Se den instrumentspesifikke brukermanualen når du skal kjøre eller kalibrere analysen.

Kalibrering

Utfør en full kalibreringsprosedyre (6 punkter) ved hjelp av ARK Methotrexate Calibrators A, B, C, D, E og F, og test kalibratorer i duplikat. Kalibrering er nødvendig for hver nytt reagenskitlotnummer. Verifiser kalibreringskurven med minst to konsentrasjoner av kvalitetskontroller i henhold til den etablerte kvalitetssikringsplanen ved laboratoriet.

Når skal det kalibreres på nytt

- Når reagenser med et nytt lotnummer skal brukes
- Når kvalitetskontrollresultater angir det
- Når standard laboratorieprotokoller krever det

Kvalitetskontroll

Laboratorier skal etablere kvalitetskontrollprosedyrer for ARK Methotrexate Assay. Alle kvalitetskontrollkrav og all analysering skal utføres i overensstemmelse med lokale og/eller nasjonale forskrifter eller akkrediteringskrav.

God laboratoriepraksis foreslår at minst to konsentrasjoner (lave og høye medisinske beslutningspunkter) av kvalitetskontroll skal testes hver dag pasientprøver skal analyseres og hver gang en kalibrering utføres. Kontrollverdiene skal monitoreres med tanke på trender eller forskyvninger. Hvis trender eller forskyvninger påvises, eller hvis ikke kontrollen gjenfinnes innenfor for det fastlagte området, må alle driftsparametere kontrolleres i henhold til det kliniske laboratoriets kvalitetsprosedyrer. Kontakt kundeservice for videre assistanse.

Protokoll for manuell fortynning

Måleområdet til ARK Methotrexate Assay er 0,04–1,20 µmol/L. Prøver og kontroller som inneholder metotreksat i høyere konsentrasjoner (>1,20 µmol/L), analyseres ved fortynning av prøven og kontrollene i måleområdet.

Fortynn den høye prøven eller kontrollen manuelt med ARK Methotrexate Dilution Buffer ved å tilberede riktige titalls seriefortynninger som vist nedenfor.

	Prøve- volum	Fortynningsbu- ffer- volum	Fortynning	Fortynningsf- aktor
50 µL	Ufortynnet prøve	450 µL	1:10	10
50 µL	Prøve 1:10	450 µL	1:100	100
50 µL	Prøve 1:100	450 µL	1:1000	1000
50 µL	Prøve 1:1000	450 µL	1:10000	10000

$$\text{Manuell fortynningsfaktor} = \frac{(\text{prøvens volum} + \text{fortynningsbufferens volum})}{\text{Prøvevolum}}$$

Multipliser det analyserte resultatet med fortynningsfaktoren.

9 Resultater

µmol/L omdannes til µg/mL ved å dele verdien som ble oppnådd av omdanningsfaktoren, på 2,2005.

10 Begrensninger ved prosedyren

Denne analysen er kun beregnet for bruk med serum eller plasma. Se avsnittene Prøvetaking og Forberedelse til analyse. Det er generelt god praksis å bruke samme metode (samt matriks) konsekvent for individuell pasientbehandling på grunn av den potensielle risikoen for variasjon mellom metoder. Se avsnittet Referanseintervaller nedenfor.

Som med alle analyttbestemmelser skal metotreksatverdien brukes sammen med tilgjengelig informasjon fra kliniske evalueringer og andre diagnostiske prosedyrer.

VIKTIG: Prøver fra pasienter som har fått glukarpidase (karboksypeptidase G2) som en redningsbehandling med en høydose metotreksat, skal **ikke** testes med ARK Methotrexate Assay. Disse prøvene har økte serumkonsentrasjoner av 4-[[2,4-diamino-6-(pteridinyl)metyl]-metylamino]-benzoylsyre (DAMPA)¹⁰⁻¹² som er et resultat av metabolisme av metotreksat med glukarpidase. DAMPA kryssreagerer med metotreksatantistoffet som brukes i denne analysen, og kan fortsette å sirkulere i minst fem til syv dager før nøyaktige målinger av serummetotreksat kan oppnås på nytt.¹³ Onkologer bør varsle laboratoriet når det behandles med glukarpidase, for å unngå rapportering av falskt forhøyede metotreksatkonsentrasjoner på grunn av interferens fra DAMPA, som vil skape forvirring for glukarpidasebehandling.¹³ Samtidig som glukarpidase tolereres godt og raskt reduserer sirkulerende MTX, kan forsinket eliminering av MTX fra nyrene likevel være et problem for voksne og eldre pasienter.¹⁴

11 Referanseintervaller

Serumkonsentrasjoner av metotreksat avhenger av indikasjon for bruk, dosering, administreringsmåte, behandlingsregime, individuell farmakokinetikk, metabolisme og andre kliniske faktorer.^{1,3} Mens serumkonsentrasjonen typisk kan nå omtrent 10 til 100 $\mu\text{mol/L}$ ved behandling av brystkreft (for eksempel),¹⁵ kan konsentrasjoner overskride 1000 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁶ ved behandling av osteosarkom med høye doser, og opptil 3100 $\mu\text{mol/L}$ metotreksat ble nådd etter en 4-timers infusjon hos pediatriske pasienter med osteosarkom.¹⁷ Når det gjelder behandling av osteosarkom,¹⁶ har nedbrytningskurven for metotreksat stor variasjon: 30 til 300 $\mu\text{mol/L}$ på 24 timer, 3 til 30 $\mu\text{mol/L}$ på 48 timer og mindre enn 0,3 $\mu\text{mol/L}$ på 72 timer. En dose på 10 mg leukovorin administreres vanligvis intravenøst 24 timer etter at MTX-infusjonen har startet. Påfølgende doser justeres og administreres i henhold til MTX-konsentrasjonene som er oppnådd etter 24, 48 og 72 timer. Metotreksatkonsentrasjoner på over 50 $\mu\text{mol/L}$ etter 24 timer, 10 $\mu\text{mol/L}$ etter 48 timer og 0,5 $\mu\text{mol/L}$ etter 72 timer viser potensiell toksisitet og behandles vanligvis med en økning i dosen av leukovorin i overensstemmelse med algoritmer til MTX-konsentrasjonen er $<0,1 \mu\text{mol/L}$. Retningslinjer for metotreksatbehandling med leukovorinredning anbefaler

vanligvis å fortsette med leukovorin til metotreksatkonsentrasjonen faller under 0,05 µmol/L.^{1, 9} Enkelte sentre følger ≤ 0,10 µmol/L.^{16, 18}

Fra forskrivning og annen informasjon: Laboratorieindikatorer for toksisitet etter leukovorinredningsplaner med høye doser av metotreksat.^{1, 9, 19}

Klinisk situasjon	Laboratorieresultater	
	Metotreksat-konsentrasjon (µmol/L)	Timer etter administrasjon n
Normal metotreksateliminerings	~10	24
	~1	48
	<0,2	72
Forsinket sen metotreksateliminerings	>0,2	72
	>0,05	96
Forsinket tidlig metotreksateliminerings	≥ 50	24
	≥ 5	48
og/eller	ELLER	
Evidens på akutt nyreskade	≥100 % økning i kreatinin i serum	24

Nyretoksisitet er en betydelig risiko og kan forverres ved samtidig administrering av andre legemidler,^{14, 19} for eksempel vankomycin.²⁰ Andre former for toksisitet kan forekomme, inkludert fordøyelsesforstyrrelser (f.eks. kvalme, oppkast, magesmerter), lidelser i hud og slimhinner (spesielt slimhinnebetennelse), hematologiske unormaliteter (f.eks. nøytropeni og trombocytopeni), forstyrrelser i leverfunksjonsprøver og nevrotoksisitet.²¹⁻²⁸

Gitt profilen for forekomst av metabolitten 7-hydroksymetotreksat,^{15, 27} dens molforhold til metotreksat på opptil ca. 100 ganger,²⁹ og relativ uløselighet i forhold til det opprinnelige medikamentet,^{14, 19} kan mulig nefrotoksisitet på grunn av utfelling av metabolitten i nyretubuli²⁹ forsinke eliminasjonen av selve metotreksatet.

Glukarpidasebehandling (tilgjengelig for "compassionate use") reduserer den sirkulerende konsentrasjonen av metotreksat raskt, men ikke intracellulært medikament. En rebound-effekt i serumnivået av metotreksat etter glukarpidasebehandling er observert.¹⁴ Eliminering av DAMPA kan ta flere dager før det ikke lenger interfererer med monitoreringen av metotreksat med immunologisk analyse.¹³

12 Spesifikk ytelsesevnekarakteristikk

Hvert laboratorium er ansvarlig for verifisering av ytelsesevne ved bruk av instrumentparametere som er etablert for analyseinstrumentet de har. Følgende ytelsesevnekarakteristikk ble oppnådd på Beckman Coulter AU680 System.

Kvantiteringsgrense (LoQ)

Følgende karakteristikk ble fastsatt i overensstemmelse med CLSI EP17-A2 for ARK Methotrexate Assay. Analyseinstrumentspesifikk ytelsesevne kan variere.

Kriterium	MTX-konsentrasjon ($\mu\text{mol/L}$)
Blankverdigranse (LoB), N = 60 $\mu\text{B} + 1,645 \text{ SD}$, der $\text{SD} = 0,002$	0,00
Deteksjonsgrense (LoD), N = 60 $\text{LoB} + 1,652 \text{ SD}$, der $\text{SD} = 0,012$	0,02
Kvantiteringsgrense (LoQ), N = 40 $\text{LoQ} - 2 \text{ SD} > \text{LoD}$	0,04

Hvert laboratorium er ansvarlig for bestemmelse av rapporteringskriterier for metotreksatkonsentrasjoner. Følgende forslag fra CLSI EP17-A2 kan være passende:

Resultat \leq LoB	rapporter "ikke påvist, konsentrasjon $<$ LoD"
LoB $<$ resultat $<$ LoQ	rapporter "analytt påvist, konsentrasjon $<$ LoQ"
Resultat \geq LoQ	rapporter resultatet som målt

Måleområde

Måleområdet til ARK Methotrexate Assay er 0,04–1,20 $\mu\text{mol/L}$. Prøver som inneholder metotreksat i høyere konsentrasjoner, analyseres ved å fortynne prøven. Rapportert analyserte verdier som overskrider LoD, i henhold til informasjonen som er gitt for LoQ. Multipliser det analyserte resultatet med fortynningsfaktoren for prøver som inneholder metotreksat over måleområdet.

Gjenfinning

Nøyaktighet (analytisk gjenfinning) ble utført ved å tilsette konsentrert metotreksatmedikament i humant serum negativt for metotreksat. Et sertifisert stamkonsentrat av svært rent metotreksat ble tilsatt volumetrisk i humant serum som var negativt for metotreksat, og representerte medikamentkonsentrasjoner over hele analysekalibreringsområdet. Seks replikater av hver prøve ble analysert på et automatisert klinisk-kjemisk analyseinstrument. Det ble beregnet gjennomsnitt av resultatene, og de ble sammenlignet med målkonsentrasjonen og kalkulert prosent gjenvinning. Resultater vises nedenfor.

$$\% \text{ gjenfinning} = 100 \times \frac{\text{gjennomsnittlig gjenfunnet konsentrasjon}}{\text{Teoretisk konsentrasjon}}$$

Teoretisk konsentrasjon (µmol/L)	Gjennomsnittlig gjenfunnet konsentrasjon (µmol/L)	Prosentandel gjenfinning (%)
0,06	0,06	102,8
0,10	0,11	108,3
0,30	0,30	101,1
0,60	0,62	103,3
1,00	1,06	105,7

Gjennomsnittlig prosentandel gjenfinning: 104,2

Linearitet

Linearitetsstudier ble utført som beskrevet i CLSI EP6-A. En serumprøve på 1,40 µmol/L ble forberedt og fortyninger ble laget proporsjonalt med humant serum negativt for metotreksat. ARK Methotrexate Assay var lineær mellom 0,03 til 1,20 µmol/L. Resultater vises nedenfor.

Teoretisk (µmol/L)	Observerte resultater (µmol/L)	Estimerte resultater av 1. orden	Estimerte resultater av 2. orden	Forskjell (µmol/L eller %)
0,00	0,01	-0,002	0,010	NA
0,03	0,04	0,029	0,038	0,009 µmol/L
0,05	0,06	0,050	0,057	0,007 µmol/L
0,12	0,13	0,124	0,125	1,1 %
0,24	0,24	0,250	0,243	-2,7 %
0,36	0,36	0,375	0,363	-3,2 %
0,48	0,49	0,501	0,486	-3,0 %
0,72	0,72	0,753	0,740	-1,8 %
0,96	1,02	1,005	1,003	-0,2 %
1,20	1,27	1,257	1,277	1,6 %

Prøver som inneholdt metotreksat mellom 2 og 1200 µmol/L, ble forberedt proporsjonalt i en human serumpool og deretter fortynt i kalibreringsområdet med ARK Methotrexate Dilution Buffer. Regresjon av analyserte metotreksatkonsentrasjoner var lineær gjennom hele området.

Metodesammenligning

Korrelasjonsstudier ble utført ved bruk av CLSI EP9-A3. Resultater fra ARK Methotrexate Assay på Beckman Coulter AU680 analyseinstrument ble sammenlignet med resultater på Roche/Hitachi 917 analyseinstrument.

Metotreksatkonsentrasjoner med Roche/Hitachi 917 varierte fra 0,04 til 1050 $\mu\text{mol/L}$ (μM). Verdier for ARK Methotrexate på Beckman Coulter AU680 varierte fra 0,04 til 1070 $\mu\text{mol/L}$. Resultater av Passing-Bablok-regresjonsanalysen³⁰ for studien er vist nedenfor (med konfidensgrenser på 95 %) for 112 prøver innenfor måleområdet, samt for alle 142 prøver inkludert de over måleområdet som krevde fortykning.

Parameter	Område 0,04 til 1,11 μM		Område 0,04 til 1050 μM	
Slope	0,99	(0,96 til 1,00)	1,00	(1,00 til 1,02)
y-intercept	0,00	(0,00 til 0,01)	0,00	(0,00 til 0,00)
Korrelasjonskoeffisient (r^2)	0,98	(0,97 til 0,98)	1,00	(1,00 til 1,00)
Antall prøver	112	NA	142	NA

Presisjon

Presisjon ble fastsatt som beskrevet i CLSI EP5-A3. ARK Methotrexate Control med seks nivåer og en human serumpool som inneholdt metotreksat, ble brukt i studien. Hvert nivå ble analysert i fire eksemplarer to ganger om dagen i 20 dager. Det var minst to timer mellom hver av kjøringene per dag. Det ble kalkulert total SD og prosent CV innen serie og mellom dager. Resultater vises nedenfor. Akseptkriterier: $\leq 10\%$ total CV ved $>0,1 \mu\text{mol/L}$, SD $\leq 0,01$ ved $\leq 0,1 \mu\text{mol/L}$.

Prøve	N	Middel ($\mu\text{mol/L}$)	Innen serie		Mellom dager		Total	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
ARK Methotrexate Control								
LAV	160	0,08	0,006	7,8	0,004	5,5	0,008	9,6
MID	160	0,39	0,009	2,2	0,007	1,7	0,012	3,1
HØY	160	0,78	0,026	3,3	0,027	3,5	0,038	4,9
5	160	5,2	0,186	3,6	0,247	4,8	0,309	6,0
50	160	48,7	3,674	7,6	2,264	4,6	4,439	9,2
500	160	516,8	13,284	2,6	35,641	6,9	38,813	7,5
Humant serum								
LAV	160	0,08	0,007	8,9	0,006	7,2	0,009	11,2
MID	160	0,41	0,011	2,6	0,008	2,1	0,015	3,7
HØY	160	0,82	0,038	4,6	0,031	3,8	0,050	6,1
5	160	5,2	0,278	5,3	0,381	7,3	0,464	8,9
50	160	53,0	1,624	3,1	3,319	6,3	3,705	7,0
500	160	507,9	12,222	2,4	22,957	4,5	26,177	5,2

Interfererende substanser

Interferensstudier ble utført ved bruk CLSI EP7-A2 som en retningslinje. Klinisk høye konsentrasjoner av følgende potensielt interfererende endogene substanser i serum med kjente nivåer av metotreksat (ca. 0,05 og 0,50 µmol/L) ble evaluert. Hver prøve ble analysert ved bruk av ARK Methotrexate Assay, sammen med en serumkontroll av metotreksat. Måling av metotreksat ble ikke vesentlig påvirket av konsentrasjonene av endogene substanser som ble analysert.

Interfererende substans	Interferent-konsentrasjon	Metotreksat (~ 0,05 µmol/L)		Metotreksat (~ 0,50 µmol/L)	
		Serumkontroll	Analyse	Serumkontroll	Analyse (% kontroll)
Albumin	12 g/dL	0,05	0,05	0,48	0,50 (103,5)
Bilirubin – konjugert	70 mg/dL	0,05	0,06	0,48	0,49 (101,4)
Bilirubin – ukonjugert	70 mg/dL	0,05	0,05	0,48	0,48 (101,4)
Kolesterol	620 mg/dL	0,05	0,04	0,47	0,48 (103,2)
Gammaglobulin	12 g/dL	0,05	0,06	0,48	0,49 (100,7)
Hemoglobin	1000 mg/dL	0,06	0,06	0,48	0,49 (101,4)
Revmatoid faktor	1080 IU/mL	0,06	0,07	0,46	0,45 (96,7)
Triglyserider	835 mg/dL	0,05	0,04	0,48	0,48 (98,6)
Urinsyre	30 mg/dL	0,05	0,06	0,48	0,49 (100,7)

Spesifisitet

Metotreksatets metabolitter, folat analoger og andre forbindelser med strukturelle likheter ble analysert for å fastsette om disse forbindelsene påvirker kvantifiseringen av metotreksatkonsentrasjoner ved bruk av ARK Methotrexate Assay. Høye konsentrasjoner av disse forbindelsene ble tilsatt i serumpooler som ikke inneholdt metotreksat, eller som inneholdt 0,05 µmol/L eller 0,50 µmol/L metotreksat. Prøvene ble analysert, og metotreksatkonsentrasjonene i prøver som inneholdt interferent, ble sammenlignet med en serumkontroll.

Kryssreaktivitet mot 7-hydroksymetotreksat, den viktigste metabolitten

Etter administrering av høydose metotreksat (HDMTX) overskrider serum/plasma-konsentrasjonen av 7-hydroksymetotreksat vanligvis metotreksatkonsentrasjonen på senere tidspunkt. Det er rapportert at 7-hydroksymetotreksatkonsentrasjoner overstiger metotreksatkonsentrasjonene med opptil 100 ganger 12 til 48 timer etter administrering av HDMTX.^{15, 27, 29, 31, 33-34}

Kryssreaktivitet med 7-hydroksymetotreksat i målingen av metotreksat ble fastsatt for ARK Methotrexate Assay ved å analysere parede prøver som inneholdt (1) både 0,05 µmol/L metotreksat og 5 µmol/L 7-hydroksymetotreksat og (2) både 0,50 µmol/L metotreksat og 50 µmol/L 7-hydroksymetotreksat i humant serum.

ARK Methotrexate Assay kryssreagerte ikke ($\leq 0,1\%$) med den viktigste metabolitten, 7-hydroksymetotreksat.

Kryssreaktivitet mot 2,4-diamino- N^{10} -metylpteroinsyre (DAMPA)

Som en mindre metabolitt av metotreksat forventes det ikke at DAMPA sirkulerer ved konsentrasjoner som ville interferere med måling av metotreksat.³² Etter redningsbehandling med glukarpidase kan serumkonsentrasjonen av DAMPA imidlertid være betydelig.^{13, 14} ARK Methotrexate Assay kryssreagerer sterkt med den mindre metabolitten DAMPA. Analyser ble utført i fravær av det opprinnelige medikamentet metotreksat. Kryssreaktivitet mot DAMPA varierte fra 76,3 % til 100 % basert på observerte data. Analysen skal ikke brukes under mulig "compassionate use"-behandling med glukarpidase (karboksypeptidase G2) som raskt omdanner sirkulerende metotreksat til DAMPA.

Medikamenter som kryssreagerer

ARK Methotrexate Assay kryssreagerer litt med triamteren og trimetoprim, men disse medikamentene kan være kontraindisert for MTX-kreftbehandling på grunn av ytterligere bivirkninger ved samtidig administrering. Strukturene til disse forbindelsene samsvarer nøye med pteridinringdelen av metotreksat. I fravær av metotreksat ble det observert kryssreaktivitet mot triamteren (1,15 %) og trimetoprim (0,01 %). I nærvær av metotreksat ble kryssreaktivitet mot triamteren ($\leq 3,3\%$) og trimetoprim ($\leq 0,5\%$) resultatet basert på observerte data.

Kryssreaktivitet mot folat analoger og andre forbindelser

ARK Methotrexate Assay kryssreagerte ikke ($\leq 0,01\%$) med folat analoger eller andre forbindelser ved $\geq 1000 \mu\text{mol/L}$ i henhold til analysen.

Forbindelse	Analysert ($\mu\text{mol/L}$)
Adriamycin	1000
Cyclofosfamid	1500
Cytosin	1000
Dihydrofolsyre	1000
DL-6-metyl-5,6,7,8-tetrahydropterin	1000
Folinsyre	1000
Folinsyre (leukovorin)	1000
5-fluorouracil	3000
6-merkaptopurin	1000
5-metyltetrahydrofolsyre	1000
Prednisolon	1000
Pyrimetamin	1000
Sulfametoksazol	1600
Tetrahydrofolsyre	1000
Vinblastin	1000
Vinkristin	1000

13 Referanser

1. Prescribing information. 2008. Methotrexate Injection, USP. Hospira, Inc. Lake Forest, IL.
2. Jonsson, O. G. and Kamen, B. A. 1991. Methotrexate and childhood leukemia. *Cancer Investigation* **9**:53 – 60.
3. Bleyer, W. A. 1978. The clinical pharmacology of methotrexate: New applications of an old drug. *Cancer* **41**:36 – 51.
4. Saeter, G. et al. 1991. Treatment of osteosarcoma of the extremities with the T-10 protocol, with emphasis on the effects of preoperative chemotherapy with single-agent high-dose methotrexate: A scandinavian sarcoma group study. *Journal of Clinical Oncology* **9**:1766 – 1775.
5. Abromowitch, M. et al. 1988. High-dose methotrexate improves clinical outcome in children with acute lymphoblastic leukemia: St. Jude total therapy study X. *Medical and Pediatric Oncology* **16**:297 – 303.
6. Hann, I. M. et al. 1990. 'MACHO' chemotherapy for stage IV B cell lymphoma and B cell acute lymphoblastic leukaemia of childhood. *British Journal of Haematology* **76**:359 – 364.
7. Wheeler, C. A. et al. 1991. Cisplatin, continuous infusion 5-fluorouracil, and intermediate dose methotrexate in the treatment of unresectable non-small cell carcinoma of the lung. *Cancer* **67**:892 – 895.
8. Powles, T. J. et al. 1991. A randomized trial comparing combination chemotherapy using mitomycin C, mitozantrone and methotrexate (3M) with vincristine, anthracycline and cyclophosphamide (VAC) in advanced breast cancer. *Br J Cancer* **64**:406 – 410.
9. Leucovorin (Fusilev) Prescribing Information. 2008. Spectrum Pharmaceuticals, Inc. Irvine, CA.
10. Chabner, B. A. et al. 1972. Enzymatic cleavage of methotrexate provides a method for prevention of drug toxicity. *Nature* **239**:395 – 397.
11. Widemann, B. C. et al. 1995. Carboxypeptidase-G2 rescue in a patient with high dose methotrexate-induced nephrotoxicity. *Cancer* **76**:521 – 526.
12. Buchen, S. et al. 2005. Carboxypeptidase G2 rescue in patients with methotrexate intoxication and renal failure. *British Journal of Cancer* **92**:480 – 487.

13. Al-Turkmani, M. R. et al., 2010. Difficulty Measuring Methotrexate in a Patient with High-Dose Methotrexate–Induced Nephrotoxicity. *Clin Chem* **56**:1792 – 1796.
14. Schwarz, S. et al. 2007. Glucarpidase (Carboxypeptidase G2) intervention in adult and elderly cancer patients with renal dysfunction and delayed methotrexate elimination after high-dose methotrexate therapy. *The Oncologist* **12**:1299 – 1308.
15. Bore, P. et al. 1987. Pharmacokinetics of Methotrexate and 7-Hydroxy-Methotrexate After Methotrexate Infusions. *Cancer Drug Delivery* **4**:177 – 183.
16. Jaffe, N. and Gorlick, R. 2008. High-Dose Methotrexate in Osteosarcoma: Let the Questions Surcease—Time for Final Acceptance. *J Clin Oncol* **26**:4365 – 4366.
17. Colom, H. et al. 2009. Population Pharmacokinetics of High-Dose Methotrexate After Intravenous Administration in Pediatric Patients With Osteosarcoma. *Ther Drug Monit* **31**:76 – 85.
18. Dombrowsky, E. et al. 2011. Evaluating performance of a decision support system to improve methotrexate pharmacotherapy in children and young adults with cancer. *Ther Drug Monit* **33**:99 – 107.
19. Widemann, B. C. and Adamson, P. C. 2006. Understanding and managing methotrexate nephrotoxicity. *Oncologist* **11**:694 – 703.
20. Blum, R. et al. 2002. Significant impairment of high-dose methotrexate clearance following vancomycin administration in the absence of overt renal impairment. *Annals of Oncology* **13**:327 – 330.
21. Martelli, N. et al. 2011. Methotrexate pharmacokinetics in childhood acute lymphoblastic leukaemia: a prognostic value? *J Clin Pharm Ther* **36**:237 – 245.
22. Mazanec, D. J. and Grisanti, J. M. 1989. Drug-induced osteoporosis. *Cleve Clin J of Med* **56**:297 – 303.
23. Chessells, J. M. et al. 1990. Neurotoxicity in lymphoblastic leukaemia: Comparison of oral and intramuscular methotrexate and two doses of radiation. *Archives of Disease in Childhood* **65**:416 – 422.
24. Allen, J. C. et al. 1980. Leukoencephalopathy following high-dose IV methotrexate chemotherapy with leucovorin rescue. *Cancer Treat Rep* **64**:1261 – 1273.
25. Jacobs, P. et al. 1991. Methotrexate encephalopathy. *Eur J Cancer* **27**:1061 – 1062.

26. Flombaum, C. D. and Meyers, P. A. 1999. High-Dose Leucovorin as Sole Therapy for Methotrexate Toxicity. *J Clin Oncol* **17**:1589 – 1594.
27. Collier, C. P. et al. 1982. Analysis of methotrexate and 7-hydroxymethotrexate by high-performance liquid chromatography and preliminary clinical studies. *Ther Drug Monit* **4**:371 – 380.
28. Widemann, B. C. et al. 2010. Glucarpidase, leucovorin, and thymidine for high-dose methotrexate-induced renal dysfunction: clinical and pharmacologic factors affecting outcome. *J Clin Oncol* **28**:3979 – 3986.
29. Erttmann, R. et al. 1985. 7-Hydroxy-Methotrexate and Clinical Toxicity Following High-Dose Methotrexate Therapy. *J Cancer Res Clin Oncol* **109**:86 – 88.
30. Bablok, W. et al. 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**:783 – 790.
31. Jacobs, S. A. et al. 1976. 7-Hydroxymethotrexate as a urinary metabolite in human subjects and rhesus monkeys receiving high dose methotrexate. *J Clin Invest* **57**:534 – 538.
32. Wolfrom, C. et al. 1990. Pharmacokinetic study of methotrexate, folinic acid and their serum metabolites in children treated with high-dose methotrexate and leucovorin rescue. *Eur J Clin Pharmacol* **39**:377 – 383.
33. Belz, S. et al. 1994. High-performance liquid chromatographic determination of methotrexate, 7-hydroxymethotrexate, 5-methyltetrahydrofolic acid and folinic acid in serum and cerebrospinal fluid. *J Chromatogr B Biomed Appl* **661**:109 – 118.
34. Breithaupt, H. and Kuenzlen, E. 1982. Pharmacokinetics of methotrexate and 7-hydroxy-methotrexate following infusions of high dose methotrexate. *Cancer Treat Rep* **66**:1733 – 1741.

14 Varemerker

ARKTM er et varemerke tilhørende ARK Diagnostics, Inc.

Other brand or product names are trademarks of their respective holders.



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Revidert i august 2020
1600-0213-00 Rev 08