


ARK™ levetiracetamanalys













Denna bipacksedel till ARK levetiracetamanalys från ARK Diagnostics, Inc. måste läsas noggrant före användning. Följ anvisningarna i bipacksedeln. Vid avvikelser från anvisningarna i denna bipacksedel kan tillförlitligheten i analysresultaten inte garanteras.

Kundtjänst

 **ARK Diagnostics, Inc.**
 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

 **EC REP**
 Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 Nederländerna

Symbolförklaring

	Batchkod	 AAAA- MM-DD	Använd före/utgångsdatum
	Katalognummer		Tillverkare
	Behörig representant		CE-märkning
	In vitro-diagnostisk medicinteknisk produkt		Temperaturbegränsningar
	Se bruksanvisningen	 	Reagens 1/reagens 2
	Receptbelagd produkt		

1 Namn

ARKTM levetiracetamanalys

2 Avsedd användning

ARK levetiracetamanalys är en homogen enzymimmunanalys avsedd för kvantitativ bestämning av levetiracetam i humant serum eller plasma på automatiserade kliniska kemianalysatorer. Levetiracetamkoncentrationer kan användas som ett hjälpmedel i vården av patienter som behandlas med levetiracetam.

3 Sammanfattning och förklaring av testet

Levetiracetam (KEPPRA[®], (S)- α -etyl-2-oxo-1-pyrrolidin acetamid) är ett antikonvulsivt medel som är godkänt som tilläggsbehandling vid epilepsi.¹

4 Princip

ARK levetiracetamanalys är en homogen immunanalys baserad på konkurrens mellan läkemedel i provet och levetiracetam märkt med enzymet glukos-6-fosfatdehydrogenas (G6PDH) för bindning till antikroppsreagenset. Eftersom den senare binder antikroppen avtar enzymaktiviteten. I närvaro av läkemedlet från provet ökar enzymaktiviteten som är direkt proportionell mot läkemedelskoncentrationen. Det aktiva enzymet omvandlar koenzymet nikotinamidadeninukleotid (NAD) till NADH som mäts spektrofotometriskt som hastigheten i absorbansändring. Endogent serum G6PDH interfererar inte med resultatet eftersom koenzymet NAD bara fungerar med det bakteriella enzym som används i analysen.

5 Reagens

REF	Produktbeskrivning	Antal/volym
5024-0001-00	ARK levetiracetamanalys Reagens R1 – antikropp/substrat Polyklonala kaninantikroppar mot levetiracetam, glukos-6-fosfat, nikotinamidadeninukleotid, bovint serumalbumin, konserveringsmedel och stabiliseringsmedel	1 x 28 mL
	Reagens R2 – enzym Levetiracetam märkt med bakteriellt G6PDH, buffert, bovint serumalbumin, konserveringsmedel och stabiliseringsmedel	1 x 14 mL

Hantering och förvaring av reagens

Reagensen till ARK levetiracetamanalys levereras i vätskeform, är bruksklara och kan användas direkt från kylskåpet. När reagensen inte används ska de förvaras vid 2–8 °C i upprätt läge och med skruvkorkarna ordentligt åtdragna. Vid förvaring enligt anvisningarna är reagensen stabila fram till det utgångsdatum som anges på etiketten. Reagensen får inte frysas. Undvik långvarig exponering för temperaturer över 32 °C. **Felaktig förvaring av reagens kan påverka analysresultaten.**

6 Varningar och försiktighetsåtgärder

- För **in vitro-diagnostisk** användning. Receptbelagd.
- Reagens R1 och R2 tillhandahålls som ett matchat set och bör inte bytas ut mot reagens från andra lotnummer.

7 Provtagning och förberedelse för analys

- Serum eller plasma behövs. För enhetlighetens skull är det god praxis att använda samma provmatrix för individuella patienter. Steady state-dalprov (före dos) anses generellt ge mer konsekventa resultat vid övervakning av läkemedelsbehandling med levetiracetam. Tiden för blodprovstagning sedan den senaste dosen ska antecknas.
- Helblod kan inte användas. Följande antikoagulantia kan användas med denna analys:
 - natriumheparin
 - litiumheparin
 - kalium-EDTA.
- **Bearbeta blodprovet så snart som möjligt efter provtagning genom att förbereda serum eller plasma, eftersom levetiracetam kan hydrolyseras vid långvarig kontakt med av helblod.**²⁻³
- ANVÄND INTE GELBARRIÄRER.
- Framkalla inte skumning och undvik upprepad nedfrysning och upptining för att bevara provets integritet från tidpunkten för insamlingen fram till analys-tidpunkten.
- Fibrin, röda blodkroppar och andra partiklar kan orsaka felaktiga resultat. Säkerställ tillräcklig centrifugering.
- Renade prover kan förvaras i upp till en vecka vid 2 till 8 °C. Om det dröjer längre än en vecka innan proverna analyseras ska de förvaras frysa (≤ -10 °C) i upp till fyra veckor före analys. Tänk på att begränsa antalet cykler med nedfrysning/upptining.
- **Hantera alla patientprover som om de vore potentiellt smittsamma.**

8 Förfarande

Medföljande material

ARK levetiracetamanalys – **REF** 5024-0001-00

Material som behövs – Levereras separat

ARK levetiracetamkalibrator – **REF** 5024-0002-00

Kvalitetskontroller – ARK levetiracetamkontroll – **REF** 5024-0003-00

Instrument

Reagens R1 och R2 kan behöva överföras till analysatorspecifika reagensbehållare före användning. Undvik korskontaminering av R1 och R2.

Analyssekvens

Anvisningar för att köra eller kalibrera analysen finns i den instrumentspecifika användarmanualen.

Kalibrering

Utför en fullständig kalibrering (6 punkter) med ARK levetiracetamkalibratorerna A, B, C, D, E och F, med testkalibratorerna i duplikat. För varje ny reagenskitlot måste kalibreringen göras om. Verifiera kalibreringskurvan med åtminstone två nivåer av kvalitetskontroller enligt laboratoriets fastställda kvalitetssäkringsplan. CAL A är kalibreringsblank.

När ska ny kalibrering göras

- när en ny reagenslot börjar användas
- när detta indikeras av kvalitetskontrollresultaten
- när detta krävs enligt standardmässiga laboratorieprotokoll.

Kvalitetskontroll (QC)

Varje laboratorium bör fastställa egna QC-rutiner för ARK levetiracetamanalys. Alla kvalitetskontrollkrav och tester ska utföras i enlighet med lokala eller nationella regelverk eller krav för ackreditering.

Enligt god laboratoriesed bör åtminstone två nivåer (nedre och övre nivå för medicinska beslut) av kvalitetskontroller testas varje dag som patientprover analyseras och varje gång en kalibrering utförs. Följ kontrollvärdena för att kunna upptäcka eventuella trender eller förskjutningar. Om du detekterar trender eller förskjutningar, eller om utbytet av kontrollen inte ligger inom det angivna intervallet, ska du se över alla driftparametrar enligt kvalitetsrutinerna för kliniska laboratorier. Kontakta Customer Service för ytterligare hjälp.

Protokoll för manuell spädning

För att fastställa läkemedelsnivåerna i prover som överstiger den övre kvantifieringsgränsen ska dessa prover spädas manuellt med nollkalibrator (CAL A). Multiplicera det analyserade resultatet med spädningsfaktorn.

$$\text{Manuell spädningsfaktor} = \frac{(\text{provvoly m} + \text{volym för CAL A})}{\text{provvoly m}}$$

9 Resultat

Rapportera resultat i enheten µg/mL eller µmol/L. Om du vill konvertera resultat från µg/mL levetiracetam till µmol/L levetiracetam multiplicerar du µg/mL med 5,88. Levetiracetamvärdet från analysen ska användas tillsammans med övrig klinisk information. Information om felkoder för resultat finns i den instrumentspecifika användarmanualen.

10 Begränsningar i metoden

Analysen är endast utformad för att användas med serum eller plasma. Se avsnittet **Provtagning och förberedelse för analys**. Det är vanligen god praxis att konsekvent använda samma metod (och matrix) för individuell patientvård på grund av risken för variabilitet mellan metoder. Se avsnittet **Förväntade värden** nedan.

11 Förväntade värden

Det finns inget väletablerat referensintervall för levetiracetam. Preliminära referensintervall för anfallskontroll har föreslagits, och omfattar koncentrationer från 6 till 46 µg/mL (35 till 270 µmol/L; dalprover). Dessa intervall har dock inte validerats genom lämpliga kontrollerade provningar, och förhållandet mellan serumkoncentrationerna och den kliniska effekten är inte väldefinierat.⁴⁻⁸ Levetiracetamkoncentrationer ska användas tillsammans med information från kliniska utvärderingar och andra diagnostiska procedurer. Nivåerna av levetiracetam i blodet (serumblodkoncentrationer) kan påverkas av efterlevnad, njurfunktion, graviditet, interaktioner mellan läkemedel och tidpunkten för provtagning. Dessutom kan den kliniska effekten av dessa serumblodkoncentrationer förändras genom sjukdomsprogression och tillägg eller utsättning av läkemedel som ges samtidigt, och som kan interagera farmakodynamiskt med nivåerna av levetiracetam i blodet.

Det referensintervall för läkemedelskoncentrationer som anges ska endast indikera en nedre gräns under vilken ett behandlingssvar är relativt

osannolikt och en övre gräns över vilken toxicitet är relativt sannolikt inom de patientpopulationer som har studerats. Som regel ska läkare som använder sig av dessa referensintervall vara medvetna om att patienter, på grund av individuell variation, kan ha terapeutisk nytta av läkemedelskoncentrationer i serum som ligger utanför dessa intervall och kan drabbas av toxicitet vid nivåer som ligger under referensintervallets nedre gräns. Provtagnings tiden ska standardiseras så att dalkoncentrationer i serum mäts strax före nästa dos, helst på morgonen.

12 Specifika resultatkaraktäristika

Varje laboratorium ansvarar för att verifiera resultaten med hjälp av instrumentparametrar som fastställts för laboratoriets analysator. Följande resultatkaraktäristika erhöles med Roche/Hitachi 917-systemet.

Sensitivitet

Kvantifieringsgräns (LOQ)

LOQ för ARK levetiracetamanalys fastställdes i enlighet med CLSI EP17-A och definieras som den lägsta koncentrationen vid vilken precisionen och utbytet mellan analyser är godtagbara ($\leq 20\%$ CV med $\pm 15\%$ utbyte). LOQ fastställdes till $2,0 \mu\text{g/mL}$ och kan bero på den analysatorspecifika prestandan.

Analysintervall

Intervall för analysen är $2,0$ till $100,0 \mu\text{g/mL}$. Rapportera resultat under detta intervall som $< 2,0 \mu\text{g/mL}$ eller under den analysatorspecifika nedre LOQ som har fastställts på laboratoriet. Rapportera resultat över detta intervall som $> 100,0 \mu\text{g/mL}$ eller över den analysatorspecifika övre LOQ som har fastställts på laboratoriet.

utbyte

Kontroll av noggrannheten (analytiskt utbyte) utfördes genom tillsats av koncentrerat levetiracetam i humant serum som var negativt för levetiracetam. En koncentrationlösning med högrenat levetiracetam tillsattes volumetriskt till humant serum som var negativt för levetiracetam motsvarande läkemedelskoncentrationer över hela analysintervallet. Sex replikat av varje prov analyserades på en automatiserad analysator för klinisk kemi. Resultaten medelvärdesbildades och jämfördes med målkoncentrationen och det beräknade, procentuella utbytet. Resultaten visas nedan.

$$\% \text{ utbyte} = 100 \times \frac{\text{genomsnittlig resulterande koncentration}}{\text{teoretisk koncentration}}$$

Teoretisk koncentration (µg/mL)	Genomsnittlig resulterande koncentration (µg/mL)	Utbyte i procent
2,0	1,9	95,8
4,0	3,8	94,6
10,0	10,0	100,0
20,0	19,2	95,9
45,0	44,1	98,0
80,0	79,3	99,1
100,0	105,3	105,3

Linjäritet

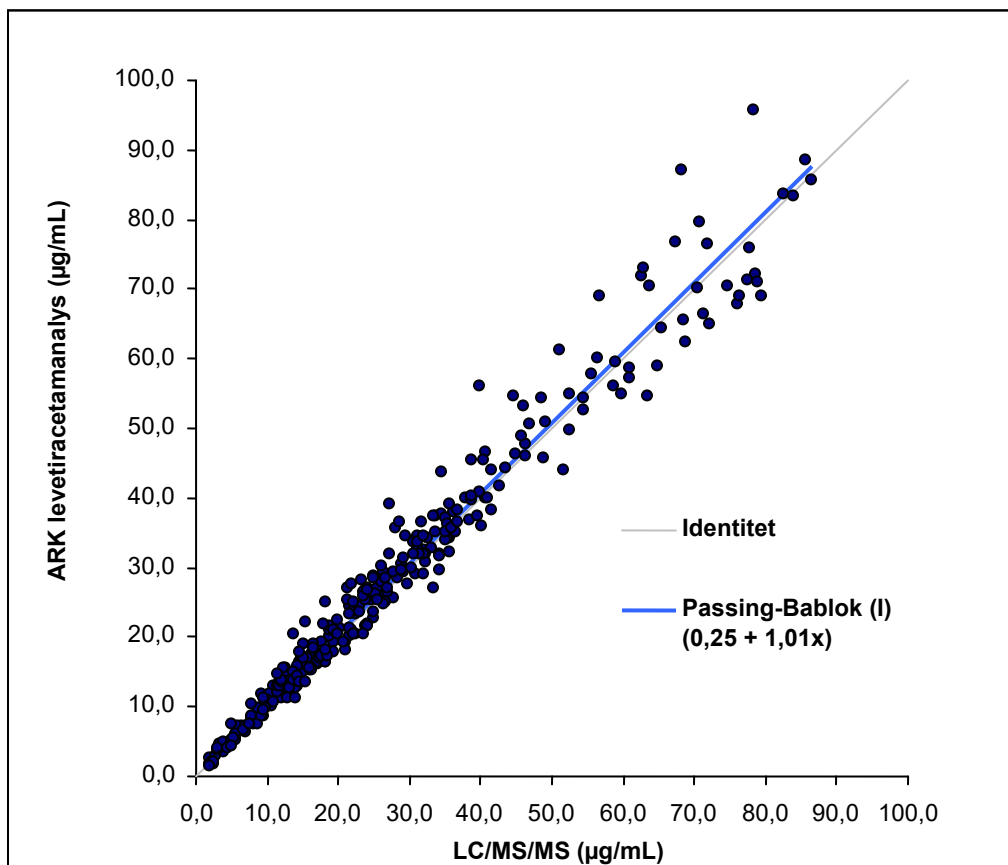
Linjäritetsstudier utfördes enligt CLSI/NCCLS-protokoll EP6-A. Ett serumprov med 100,0 µg/mL bereddes och spädningar gjordes proportionellt med humant serum som var negativt för levetiracetam. Levetiracetamkoncentrationen varierade mellan 1,0 och 100,0 µg/mL. Linjäriteten vid specifika spädningar ansågs godtagbar om den procentuella skillnaden var $\pm 10\%$ mellan de predikterade 1:a och 2:a ordningens regressionsvärden eller $\pm 15\%$ under 3,0 µg/mL. Ett linjärt förhållande påvisades mellan 2,0 och 100,0 µg/mL. Resultaten visas nedan.

Uppskattat värde (µg/mL)	Resultat (µg/mL)	1:a ordningens predikterade resultat	2:a ordningens predikterade resultat	Procentuell skillnad
2,0	1,9	2,1	2,4	13,2
3,0	3,2	3,1	3,4	7,6
4,0	4,1	4,2	4,3	4,8
5,0	5,3	5,2	5,3	3,1
6,0	6,4	6,2	6,3	2,0
7,0	7,6	7,2	7,3	1,3
8,0	8,4	8,3	8,3	0,7
9,0	9,5	9,3	9,3	0,3
10,0	10,7	10,3	10,3	-0,1
20,0	20,7	20,6	20,4	-1,3
30,0	31,0	31,0	30,5	-1,4
40,0	41,3	41,3	40,8	-1,2
50,0	51,9	51,6	51,1	-0,9
60,0	60,3	61,9	61,6	-0,5
70,0	71,2	72,2	72,1	-0,1
80,0	81,4	82,5	82,8	0,3
90,0	93,7	92,8	93,5	0,7
100,0	104,6	103,1	104,3	1,2

Metodjämförelse

Korrelationsstudier utfördes med hjälp av CLSI/NCCLS-protokoll EP9-A2. Resultaten från ARK levetiracetamanalysen jämfördes med resultaten från LC/MS/MS. Levetiracetamkoncentrationen varierade mellan 2,0 µg/mL och 86,4 µg/mL. Resultaten från studiens Passing-Bablok-regressionsanalys⁹ visas nedan (med 95 % konfidensgränsvärden).

Lutning	1,01	(0,99 till 1,03)
y-skärningspunkt	0,25	(-0,24 till 0,63)
Korrelationskoefficient (r^2)	0,97	(0,96 till 0,97)
Antal prover	305	



Precision

Precisionen bestämdes enligt beskrivningen i CLSI/NCCLS-protokoll EP5-A2. I studien användes kontroller i tre nivåer och tre poolade humana serumprover innehållande levetiracetam. Varje nivå analyserades i kvadruplikat två gånger om dagen i 20 dagar. Var och en av de dagliga körningarna gjordes med minst två timmars mellanrum. SD och procentuell CV inom körning, mellan dagar och totalt beräknades. Resultaten visas nedan. Acceptanskriterier: < 10 % totalt CV.

Prov	N	Medel (µg/mL)	Inom körning		Mellan dagar		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
ARK levetiracetamkontroll								
LÅG	160	7,5	0,25	3,4	0,23	3,2	0,34	4,5
MEDEL	160	29,4	0,85	2,9	0,83	2,8	1,08	3,7
HÖG	160	73,4	2,14	2,9	2,03	2,8	3,08	4,2
Humant serum								
LÅG	160	6,9	0,26	3,8	0,22	3,1	0,33	4,8
MEDEL	160	30,2	0,87	2,9	1,10	3,7	1,23	4,1
HÖG	160	75,5	2,19	2,9	2,35	3,1	3,31	4,4

Interfererande substanser

Interferensstudier utfördes med CLSI/NCCLS-protokoll EP7-A2 som en riktlinje. Kliniskt höga koncentrationer av följande potentiellt interfererande substanser i serum med kända halter av levetiracetam (omkring 15 och 50 µg/mL) utvärderades. Varje prov analyserades med ARK levetiracetamanalysen tillsammans med en serumkontroll av levetiracetam. Mätning av levetiracetam gav ≤ 10 % fel vid förekomst av interfererande substanser vid de testade nivåerna.

Interfererande substans	Interferent-koncentration	Procentuellt utbyte	
		15 µg/mL levetiracetam	50 µg/mL levetiracetam
Albumin	12 g/dL	99,8	102,6
Bilirubin, konjugerat	70 mg/dL	100,4	102,1
Bilirubin, okonjugerat	70 mg/dL	99,3	107,9
Kolesterol	535 mg/dL	105,3	94,0
Gammaglobulin	12 g/dL	99,8	109,5
Hemoglobin	1 000 mg/dL	98,6	100,9
Intralipid®	1 500 mg/dL	97,1	99,8
Reumafaktor	1 100 IU/mL	98,1	106,4
Triglycerider	1 033 mg/dL	96,8	100,2
Urinsyra	30 mg/dL	99,6	102,5

Specificitet

Levetiracetam hydrolyseras till den huvudsakliga metaboliten 2-pyrrolidon-*N*-butansyra (ucb L057) och till två mindre metaboliter.³ Andra läkemedel som ges rutinmässigt tillsammans med levetiracetam och antiepileptika testades också för att fastställa om dessa substanser påverkar kvantifieringen av levetiracetamkoncentrationen med ARK levetiracetamanalysen. Höga nivåer av dessa substanser tillsattes i serumpooler som innehöll låga (15 µg/mL) och höga (50 µg/mL) behandlingsnivåer av levetiracetam. Proverna analyserades och levetiracetamkoncentrationen i proverna med interferent jämfördes med serumkontrollen.

Metaboliter

Metaboliten ucb L057 testades med avseende på korsreaktivitet.

Metabolit	ucb L057 (µg/mL)	Procentuell korsreaktivitet		Procentuell interferens	
		Levetiracetam 15 µg/mL	Levetiracetam 50 µg/mL	Levetiracetam 15 µg/mL	Levetiracetam 50 µg/mL
ucb L057:					
2-pyrrolidon- <i>N</i> -butansyra	250,0	-0,2	1,3	-3,0	6,6

Läkemedelsinterferens

Levetiracetamselektiva antikroppar korsreagerade inte med testade antiepileptika och övriga läkemedel som gavs samtidigt. En hög koncentration av varje substans tillsattes i normalt humant serum med kända nivåer av levetiracetam (cirka 15 respektive 50 µg/mL) och analyserades tillsammans med en serumkontroll med levetiracetam. Mätning av levetiracetam gav ≤ 10 % fel vid förekomst av läkemedelssubstanser vid de testade nivåerna.

Substans	Testad konc. (µg/mL)	Procentuellt utbyte	
		15 µg/mL levetiracetam	50 µg/mL levetiracetam
Paracetamol	200	99,3	97,5
Acetylsalicylsyra	1 000	103,2	98,9
Amitriptylin	20	98,4	100,7
Koffein	100	95,4	97,7
Karbamazepin	120	101,1	99,7
Klonazepam	50	100,2	100,4
Cyklosporin A	40	99,9	98,4
Diazepam	50	100,3	98,6
Digoxin	40	92,9	100,2
Erytromycin	200	99,0	97,9
Etosuximid	250	98,1	101,1
Felbamat	250	100,8	97,9
Gabapentin	100	101,3	96,3
Heparin	200 enheter/mL	97,0	97,2
Hydroklorotiazid	20	98,2	98,9
Ibuprofen	500	98,5	99,2
Lamotrigin	250	94,3	102,4
Naproxen	500	99,0	101,3
Nortriptylin	20	99,3	97,8
Oxkarbazepin	50	95,5	100,4
Fenobarbital	200	98,8	99,4
Fenytoin	200	97,8	96,8
Primidon	100	97,7	97,3
Probenecid	600	100,5	101,5

Salicylsyra	500	95,1	98,4
Sulfametoxazol	400	97,9	96,3
Sulfisoxazol	400	100,6	100,4
Teofyllin	250	96,6	101,1
Tiagabin	200	99,0	97,5
Topiramat	250	94,7	99,2
Trimetoprim	40	102,0	99,3
Valproinsyra	500	98,7	96,2
Varapamil	100	100,3	96,4
Vigabatrin	150	94,0	97,1
Warfarin	250	96,6	102,3
Zonisamid	250	100,3	101,7

13 Referenser

1. Förskrivningsinformation för KEPPRA[®] (KEPPRA tabletter, KEPPRA XR[™], KEPPRA oral lösning och KEPPRA koncentrat till infusionsvätska), UCB, Inc., Smyrna, GA (www.keppra.com).
2. Patsalos, P. N. et al. 2006. In situ metabolism of levetiracetam in blood of patients with epilepsy. *Epilepsia* **47**:1818-1821.
3. Benedetti, M. S. et al. 2003. Pharmacokinetics and metabolism of ¹⁴C-levetiracetam, a new antiepileptic agent, in health volunteers. *Eur J Clin Pharmacol.* **59**:621-630.
4. Leppik, I. E. et al. 2002. Effective levetiracetam doses and serum concentrations: Age effects. *Epilepsia* **43** (Suppl 7):240.
5. Johannessen, S. I. et al. 2003. Therapeutic drug monitoring of the newer antiepileptic drugs. *Ther Drug Monit.* **25**:347-363.
6. Splinter, M. Y. 2005. Pharmacokinetic properties of new antiepileptic drugs. *Journal Of Pharmacy Practice* **18**:444–460.
7. Lancelin, F. et al. 2007. Therapeutic drug monitoring of levetiracetam by high-performance liquid chromatography with photodiode array ultraviolet detection: Preliminary observations on correlation between plasma concentration and clinical response in patients with refractory epilepsy. *Ther Drug Monit.* **29**:576-583.
8. Patsalos, P. N. et al. 2008. Antiepileptic drugs – best practice guidelines for therapeutic drug monitoring: A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia* **49**:1239-1276.
9. 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):783-790.

14 Varumärken

ARKTM är ett varumärke som tillhör **ARK** Diagnostics, Inc.
Andra märkes- eller produktnamn är varumärken som tillhör respektive ägare.
Patentnr. 8,168,756 för USA



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Reviderad i februari 2017
1600-0169-00 utgåva 03