


ARK™ Metotreksat Testi

Metotreksat Testi ARK Metotreksat Testi için bu ARK Diagnostics, Inc. prospektüsü kullanımdan önce dikkatle okunmalıdır. Prospektüs talimatlarına uyulmalıdır. Test sonuçlarının güvenilirliği, bu prospektüdeki talimatlara uyulmadığında garanti edilemez.

MÜŞTERİ HİZMETLERİ

 **ARK Diagnostics, Inc.**

48089 Fremont Blvd

Fremont, CA 94538 ABD

Tel: 1-877-869-2320

Faks: 1-510-270-6298

customersupport@ark-tdm.com

www.ark-tdm.com













Emergo Europe

Prinsessegracht 20

2514 AP The Hague

Hollanda

KULLANILAN SEMBOLLERİN AÇIKLAMALARI

	Parti kodu	 YYYY-MM-DD	Son Kullanma/ Geçerlilik Tarihi
	Katalog Numarası		Üretici
	Yetkili Temsilci		CE İşareti
	In Vitro Tanı Amaçlı Tıbbi Malzeme		Sıcaklık Sınırlaması
	Kullanım Talimatlarına Başvurun		Reaktif 1/Reaktif 2
Rx Only	Sadece Reçeteli Kullanım İçindir		

Reaktif Kiti  5026-0001-00

Reaktif Kiti  5026-0001-02

1 ADI

ARK™ Metotreksat Testi

2 KULLANIM AMACI

ARK Metotreksat Testi otomatik klinik kimya analizörlerinde insan serumundaki veya plazmasındaki metotreksatın kantitatif tespitine yönelik bir homojen enzim immunoassaydır. Elde edilen ölçümler, doğru tedavinin sağlanmasına yardımcı olmak üzere metotreksat seviyelerini izlemede kullanılmaktadır.

Yüksek doz metotreksat kurtarma tedavisi olarak glukerkipidaz (karboksipeptidaz G2) alan hastalardan alınan örnekler ARK Metotreksat Testi ile test edilmemelidir.



3 TESTİN ÖZETİ VE AÇIKLAMASI

Daha önce Amethopterin olarak bilinen metotreksat [N-[4[[[2,4-diamino-6-pteridinil] metil] metilamino]benzoyl]-L-glutamik asit], belli neoplastik hastalıklar, şiddetli psoriasis ve yetişkin romatoid artrit tedavisinde kullanılan bir antimetabolittir.¹⁻³ Metotreksat ciddi toksisite potansiyeline sahiptir. Metotreksat terapisi gören hastalar, toksik etkilerin hemen tespit edilmesi için yakından izlenmelidir. Lökovorin kurtarma ile metotreksat terapisi için kılavuzlara başvurulmalıdır.¹ Lökovorin (citrovorum-faktör) kurtarma ile orta ila yüksek dozlarda metotreksat (yaklaşık 35 mg/m² - 12 g/m²) osteojenik sarkoma, lösemi, non-Hodgkin lenfoma, akciğer ve meme kanseri tedavisinde olumlu sonuçlarla kullanılmıştır.⁴⁻⁸

4 İŞLEMİN PRENSİPLERİ

ARK Metotreksat Testi örnekteki ilaç ile glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) enzimiyle işaretlenmiş örnek ile metotreksat arasında antikor reaktifine bağlanmaya yönelik rekabete dayalı homojen bir immunoassaydır. İkincisi antikora bağlanırken, enzim aktivitesi azalır. Örnek içinde ilaç bulunduğu durumda, enzim aktivitesi artar ve ilaç konsantrasyonuyla doğrudan orantılıdır. Aktif enzim, koenzim nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) spektrofotometriyle absorbansta değişim oranı olarak ölçülen NADH'ye dönüştürür. Endojen serum G6PDH sonuçları etkilemez çünkü koenzim NAD yalnızca testte kullanılan bakteriyel enzimle aktivite sergiler.



5 REAKTİFLER

REF	Ürün Tanımı	Miktar/ Hacim
5026-0001-00 5026-0001-02	ARK Metotreksat Testi Reaktif  – Antikor/Substrat poliklonal tavşan metotreksat antikorları, glukoz-6-fosfat, nikotinamid adenin dinükleotid, siğir serum albumini, koruyucular ve stabilizörler	1 X 16 mL
	Reaktif  – Enzim Bakteriyel G6PDH, tampon, siğir serumu albümini, koruyucu ve stabilizörlerle işaretli metotreksat	1 X 8 mL

Reaktif Kullanımı ve Saklama

ARK Metotreksat Testi reaktifleri sıvı halinde, kullanıma hazır sunulmaktadır ve buzdolabından alındıktan sonra doğrudan kullanılabilir. Kullanılmadığında, reaktifler 2-8°C arasında (36-46°F) dik konumda ve vidalı kapakları sıkıca kapalı şekilde saklanmalıdır. Talimatlara uygun şekilde saklandıkları takdirde, reaktifler etiket üzerinde yazan son kullanma tarihine kadar stabildir. Reaktifleri dondurmayın. Uzun süreli olarak 32°C'nin (90°F) üzerindeki sıcaklıklardan kaçınınız. **Reaktiflerin yanlış şekilde saklanması test performansını etkileyebilir.**

6 UYARILAR VE ÖNLEMLER

- **İn Vitro Tanı Amaçlı** Kullanıma yöneliktir. Sadece reçeteli kullanım içindir.
- Reaktifler  ve  set olarak sağlanmıştır ve farklı lot numaralarına sahip reaktifler arasında değişim yapılmamalıdır.

7 ÖRNEKLERİN ALINMASI VE ANALİZ İÇİN HAZIRLANMASI

- Serum veya plazma gereklidir. Tutarlılık için, ayrı hastalar için aynı örnek matrisini kullanmak iyi bir yöntemdir.
- Metotreksatın örnek alma zamanı doza, infüzyon süresine ve hastanın klinik durumuna bağlı olacaktır. Örnek alma zamanı için özel tedavi protokollerine başvurun.
- Tam kan kullanılamaz. Aşağıdaki antikoagülanlar bu testle birlikte kullanılabilir.
 - Sodyum heparin
 - Lityum heparin
 - Potasyum EDTA
- Kan alma işlemi terapötik ilaç izleme (TDM) ile kullanım için uyumlu toplama tüpleriyle gerçekleştirilmelidir.
- Köpüklenmeye neden olmayın ve toplandığı zamandan test edildiği zamana kadar örneğin bütünlüğünü korumak için yineleyen şekilde dondurup eritmekten kaçınınız.

- Fibrin, eritrositler ve diğer partikül maddeler hatalı bir sonuca neden olabilir. Santrifüjün yeterli olduğundan emin olun.
- Berraklaştırılan örnekler 2 ila 8°C'de iki haftaya kadar saklanabilir. Test ertelenecekse, örnekler test edilmeden önce donmuş olarak ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) saklanabilir. Dondurma-çözme döngülerinin sayısını sınırlamak için dikkatli olunmalıdır. Örneklerin -20°C 'de saklandığında 3 dondurma-çözme döngüsüne dayandığı görülmüştür.
- Tüm hasta örnekleri, potansiyel enfeksiyöz olarak değerlendirilmelidir.**

8 PROSEDÜR

Sağlanan Materyaller

ARK Metokreksat Testi – [REF] 5026-0001-00

ARK Metokreksat Testi, Roche® cobas c paketi – [REF] 5026-0001-02

Gerekli Materyaller – Ayrı Olarak Sunulur

ARK Metokreksat Kalibratörü – [REF] 5026-0002-00

Kalite Kontrolleri – ARK Metokreksat Kontrolü – [REF] 5026-0003-00

ARK Metokreksat Dilüsyon Tamponu – [REF] 5026-0004-00

Cihazlar

Kullanımdan önce [R1] ve [R2] reaktiflerinin analizöre özel reaktif konteynerlere aktarılması gerekebilir. [R1] ve [R2] reaktiflerinin çapraz kontaminasyonundan kaçının.

Test Dizisi

Testi çalışmak veya kalibre etmek için, cihaza özel operatör kılavuzuna bakın.

Kalibrasyon

ARK Metokreksat Kalibratörleri A, B, C, D, E, ve F'yi kullanarak tam bir kalibrasyon (6 noktalı) prosedürü gerçekleştirin; kalibratörleri iki kez test edin. Kalibrasyon her yeni reaktif kiti lot numarasıyla gereklidir. Kalibrasyon eğrisini belirlenen laboratuvar kalite güvence planına göre en az iki seviye kalite kontrolleriyle doğrulayın.

Ne Zaman Yeniden Kalibre Etmeli

- Yeni bir reaktif lot numarası kullanıldığında
- Kalite kontrol sonuçları tarafından belirtildiğinde
- Standart laboratuvar protokolleri tarafından gerekli olduğunda

Kalite Kontrol (KK)

Laboratuvarlar ARK Metokreksat Testi için KK prosedürleri belirlemelidir. Tüm kalite kontrol gereklilikleri ve test yerel, ulusal ve/veya federal düzenlemelere veya akreditasyon gerekliliklerine uygun olarak gerçekleştirilmelidir.

İyi laboratuvar uygulaması her gün hasta örnekleri test edildiğinde ve her kalibrasyon gerçekleştirildiğinde en az iki seviye (düşük ve yüksek medikal karar noktaları) kalite kontrolünün test edilmesini önermektedir. Kontrol değerlerini eğilimler veya sapmalar açısından izleyin. Eğilim veya sapma tespit edilirse veya kontrol belirtilen aralık içinde geri dönmezse, tüm çalıştırma parametrelerini klinik laboratuvar kalite prosedürlerinize göre gözden geçirin. Daha fazla yardım için Müşteri Hizmetleri'ni arayın.

Manuel Dilüsyon Protokolü

Protokolü ARK Metokreksat Testi'nin ölçüm aralığı 0.04 - 1.20 $\mu\text{mol/L}$ 'dir. Specimens Daha yüksek konsantrasyonlarda ($>1.20 \mu\text{mol/L}$) metokreksat içeren örnekler ve kontroller, örneğin ve kontrollerin ölçüm aralığına dilüsyonuyla test edilir.

Aşağıda gösterildiği şekilde uygun on katlık seri dilüsyonu hazırlayarak, ARK Metokreksat Dilüsyon Tamponu ile yüksek örneği veya kontrolü manuel olarak seyreltin.

	Örnek Hacmi	Dilüsyon Tamponu Hacmi	Dilüsyon	Dilüsyon Faktörü
50 μL	Seyreltilmemiş örnek	450 μL	1:10	10
50 μL	1:10 örnek	450 μL	1:100	100
50 μL	1:100 örnek	450 μL	1:1000	1000
50 μL	1:1000 örnek	450 μL	1:10000	10000

Manuel Dilüsyon Faktörü = $\frac{\text{Örnek Hacmi} + \text{Dilüsyon Tamponu Hacmi}}{\text{Örnek Hacmi}}$ Test edilen

sonucu dilüsyon faktörüyle çarpın.

9 BULGULAR

$\mu\text{mol/L}$ 'yi $\mu\text{g/mL}$ 'ye dönüştürmek için, 2.2005 dönüşüm faktörüyle elde edilen değeri bölün.

10 PROSEDÜRÜN SINIRLAMALARI

Bu test sadece serum veya plazmayla kullanım için tasarlanmıştır, Örneklerin Alınması ve Analiz için Hazırlanması bölümlerine bakınız. Yöntemden yonteme değişikliği potansiyeli nedeniyle aynı yöntemi (aynı zamanda matrisi) kişisel hasta bakımı için tutarlı olarak kullanmak genellikle iyi uygulamadır. Aşağıdaki Beklenen Değerler bölümüne bakın.

Tüm analit tayinlerinde olduğu gibi, metokreksat değeri klinik değerlendirme ve diğer tanısal prosedürlerden alınabilecek bilgiyle birlikte kullanılmalıdır.

ÖNEMLİ: Yüksek doz metokreksat kurtarma tedavisi olarak glukerkipidaz (karboksipeptidaz G2) alan hastalardan alınan örnekler ARK Metokreksat Testi ile test **edilmemelidir**. Bu örnekler, glukarpidaz ile metokreksat metabolizmasından kaynaklanan 4-[[2,4-diamino-6-(pteridinil)metil]- metilamino]-benzoik asit (DAMPA)¹⁰⁻¹² serum seviyelerini artırmıştır. DAMPA bu testte kullanılan metokreksat antikoruyla çapraz reaksiyona girer ve serum metokreksatın doğru ölçümleri dönmeden önce en az beş ila yedi gün boyunca sirkülasyona devam edebilir.¹³ Klinik ekipteki onkologlar, glukarpidaz tedavisinin çalışmalarını karıştıracak DAMPA etkileşimi nedeniyle yalnızca yüksek metokreksat konsantrasyonlarının raporlanmasından kaçınmak için glukarpidaz uygulandığında laboratuvarı bilgilendirmelidir.¹³ Glukarpidaz iyi tolere edilirken ve dolaşımdaki MTX'i hızla azaltırken, MTX'in gecikmiş renal eliminasyonu yetişkin ve yaşlı hastalar için hâlâ bir sorun olabilir.¹⁴

11 BEKLENEN DEĞERLER

Metokreksat serum seviyeleri kullanım, dozaj, uygulama şekli, tedavi rejimi, bireysel farmakokinetikler, metabolizma ve diğer klinik faktörler endikasyonlarına bağlıdır.^{1,3} Serum seviyesi meme kanseri tedavisinde (örneğin)¹⁵ tipik olarak 10 ila 100 $\mu\text{mol/L}$ değerine ulaşabilirken, konsantrasyonlar osteosarkom için yüksek doz terapi ile 1000 $\mu\text{mol/L}$ 'yi aşabilir¹⁶ ve osteosarkomlu pediatrik hastalarda 4 saatlik bir infüzyonun ardından 3100 $\mu\text{mol/L}$ metokreksata ulaşılmıştır.¹⁷ Osteosarkoma¹⁶ tedavisi için metokreksat çürüme eğrisi geniş bir değişkenliğe sahiptir: 24 saat, 30 ila 300 $\mu\text{mol/L}$; 48 saat, 3 ila 30 $\mu\text{mol/L}$ ve 72 saat, 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 'den az. 10 mg lökoverin dozu genellikle MTX infüzyonu başladıktan 24 saat sonra intravenöz olarak verilir. Sonraki dozlar 24, 48 ve 72 saatte elde edilen MTX seviyelerine göre ayarlanır ve verilir. 24 saatte 50 $\mu\text{mol/L}$, 48 saatte 10 $\mu\text{mol/L}$ ve 72 saatte 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 'den fazla metokreksat seviyeleri toksisite potansiyelini işaret eder ve genellikle MTX seviyesi $<0.1 \mu\text{mol/L}$ olana kadar algoritmalara göre lökoverin dozunda bir artışla tedavi edilir. Lökoverin kurtarma ile metokreksat tedavisi için kılavuzlar genellikle metokreksat seviyesi 0.05 $\mu\text{mol/L}$ altına düşerse kadar lökoverinin devam edilmesini önerir.^{1,9} Bazı merkezler $\leq 0.10 \mu\text{mol/L}$ izler.^{16,18}

Reçeteleme ve diğer bilgilerden: Yüksek Doz Metokreksat ile Lökoverin Kurtarma Programlarını İzleyen Toksikite Laboratuvar Göstergeleri.^{1,9,19}

Klinik Durum	Laboratuvar Bulguları	
	Metokreksat Seviyesi ($\mu\text{mol/L}$)	Verildikten sonraki saatler
Normal Metokreksat Eliminasyonu	~ 10	24
	~ 1	48
	<0.2	72
Gecikmiş Geç Metokreksat Eliminasyonu	>0.2	72
	>0.05	96
Gecikmiş Erken Metokreksat Eliminasyonu ve/veya Akut Böbrek Hasarı Kanıtı	≥ 50	24
	≥ 5	48
	VEYA $\geq 100\%$ serum kreatininde artış	24

Renal toksisite önemli bir risktir ve örneğin vankomisin gibi diğer ilaçların^{14, 19} beraberinde uygulanmasıyla şiddetlenebilir.²⁰ Diğer toksisite biçimleri sindirim bozuklukları (örn. bulantı, kusma, karın ağrısı) kütanöz-mukoz bozukluklar (özellikle mukozit), hematolojik anormallikler (örn. nötropeni ve trombositopeni), karaciğer fonksiyon testi rahatsızlıkları ve nörotoksisite dahil olmak üzere meydana gelebilir.²¹⁻²⁸

7-hidroksimetokreksat metabolitin görünümünün profili,^{15, 27} yaklaşık 100 kata kadar çıkan metokreksata molar oranı²⁹ ve ana ilaca karşı rölatif çözünmezlik dikkate alındığında,^{14, 19} renal tübüllerde metabolit presipitasyonu nedeniyle olası nefrotoksisite²⁹ metokreksat eliminasyonunu geciktirebilir.

Glukarpidaz tedavisi (insani amaçlı ilaca erken erişim programı için mevcut), intraselüler ilacın değil, metokreksatın dolaşımdaki seviyesini hızla azaltır Metokreksatın serum seviyesinde bir yoksunluk etkisi glukarpidaz tedavisinden sonra gözlemlenmiştir.¹⁴ DAMPA'nın eliminasyonu, metokreksatın immunoassay tarafından izlenmesini engellemeden önce birkaç gün sürebilir.¹³

12 SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Her laboratuvar analizörleri için belirlenen cihaz parametrelerini kullanarak performans doğrulamaktan sorumludur. Aşağıdaki performans özellikleri Beckman Coulter AU680 Sistemi üzerinde elde edilmiştir.

Ölçüm Sınırı (LoQ)

ARK Metokreksat Testi için aşağıdaki özellikler CLSI EP17-A2 'ye göre belirlenmiştir. Analizöre özgü performans değişiklik gösterebilir.

Kriter	MTX Konsantrasyonu (µmol/L)
Kör Sınırı (LoB); N = 60 µB + 1.645 SD , burada SD = 0.002	0.00
Tespit Sınırı (LoD); N = 60 LoB + 1.652 SD, burada SD = 0.012	0.02
Ölçüm Sınırı (LoQ); N = 40 LoQ – 2 SD > LoD	0.04

Her laboratuvar metotreksat konsantrasyonları için raporlama kriterleri belirlemeden sorumludur. CLSI EP17-A2'nin aşağıdaki önerisi uygun olabilir:

Sonuç ≤ LoB	rapor "tespit edilmedi; konsantrasyon < LoD"
LoB < Sonuç < LoQ	report "analit tespit edildi; konsantrasyon < LoQ"
Sonuç ≥ LoQ	sonucu ölçüldüğü gibi rapor edin

Ölçüm Aralığı

Protokolü ARK Metotreksat Testi'nin ölçüm aralığı 0.04 - 1.20 µmol/L'dir. Daha yüksek konsantrasyonlarda metotreksat içeren örnekler, örneğin dilüsyonu tarafından test edilir. LoD'u aşan test edilmiş değerleri LoQ için sağlanan bilgiye göre rapor edin. Test edilen sonucu, ölçüm aralığı üzerinde metotreksat içeren örneklerle yönelik dilüsyon faktörüyle çarpın.

Geri Kazanım

Doğruluk (analitik geri kazanım), metotreksat için negatif insan serumuna konsantrasyonun metotreksat ilacı eklenerek gerçekleştirilmiştir. Onaylanmış yüksek ölçüde saf metotreksat stok konsantrasyonu, metotreksat açısından negatif insan serumuna hacimsel olarak eklenmiş olup, test kalibrasyon aralığı boyunca ilaç konsantrasyonlarını temsil eder. Her örneğin altı kopyası bir otomatik klinik kimya analizörü üzerinde test edilmiştir. Sonuçların ortalaması alınmış ve hedef konsantrasyon ve hesaplanan yüzde geri kazanımıyla kıyaslanmıştır. Sonuçlar aşağıda gösterilmektedir.

$$\% \text{ Geri kazanım} = 100 \times \frac{\text{Ortalama geri kazanılan konsantrasyon}}{\text{Teorik konsantrasyon}}$$

Teorik Konsantrasyon (µmol/L)	Ortalama Geri Kazanılan Konsantrasyon (µmol/L)	Geri Kazanım Yüzdesi (%)
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

Ortalama geri kazanım yüzdesi: 104.2

Doğrusallık

Doğrusallık çalışmaları CLSI EP6-A'da önerildiği üzere gerçekleştirilmiştir. Bir 1.40 µmol/L serum örneği hazırlanmıştır ve dilüsyonlar metotreksat açısından negatif insan serumuyla orantısal olarak yapılmıştır. ARK Metotreksat Testi 0.03 ila 1.20 µmol/L arasında doğrusaldır. Sonuçlar aşağıda gösterilmektedir.

Teorik (µmol/L)	Gözlemlenen Sonuçlar (nmol/L)	1. Sıra Tahmin Edilen Sonuçlar	2. Sıra Tahmin Edilen Sonuçlar	Fark (µmol/L veya %)
0.00	0.01	-0.002	0.010	YOK
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 %

2 ve 1200 µmol/L metotreksat içeren örnekler insan serumu havuzunda orantısal olarak hazırlanmış ve ARK Metotreksat Dilüsyon Tamponu ile kalibrasyon aralığına seyreltilmiştir. Dilüsyon Tamponu Test edilen metotreksat konsantrasyonlarının regresyonu aralık boyunca doğrusal olmuştur

Yöntem Karşılaştırması

CLSI EP9-A3 kullanılarak korelasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Beckman Coulter AU680 analizörü kullanılarak ARK Metotreksat Testi'nden alınan sonuçlar Roche/ Hitachi 917 analizörü ile elde edilen sonuçlarla karşılaştırılmıştır.

Roche/Hitachi 917'ye göre metotreksat konsantrasyonları 0.04 ila 1050 µmol/L (µM) aralığındadır. Beckman Coulter AU680'deki ARK Metotreksat değerleri 0.04 to 1070 µmol/L aralığındadır. Çalışma için Passing-Bablok30 regresyon analizinin ölçüm aralığı içindeki 112 örnek ve dilüsyon gerektiren ölçüm aralığının üstündekiler dahil tüm 142 örnek için sonuçları aşağıda gösterilmektedir (%95 güven sınırlarıyla).

Parametre	Aralık 0.04 ila 1.11 µM	Aralık 0.04 ila 1050 µM
Eğim	0.99 (0.96 - 1.00)	1.00 (1.00 - 1.02)
kesme noktası	0.00 (0.00 - 0.01)	0.00 (0.00 - 0.00)
Korelasyon Katsayısı (r ²)	0.98 (0.97 - 0.98)	1.00 (1.00 - 1.00)
Örnek Sayısı	112	YOK

Kesinlik

Kesinlik CLSI EP5-A3'te açıklandığı şekilde belirlenmiştir. Altı seviyeli ARK Metotreksat Kontrolü ve metotreksat içeren toplu insan örnekleri çalışmada kullanılmıştır. Her seviye 20 gün boyunca günde iki defa, dörder kez test edilmiştir. Günlük çalışmaların her biri arasında en az iki saat vardır. Çalışma içi, günler arası, toplam SD ve yüzde CV hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıda gösterilmektedir. Kabul edilebilirlik kriterleri: >0.1 µmol/L'de ≤%10 toplam CV, ≤0.1 µmol/L'de SD ≤0.01

Örnek	N	Ortalama (µmol/L)	Çalışma İçi		Günler Arası		Toplam	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
ARK Metotreksat Kontrolü								
DÜŞÜK	160	0.08	0.006	7.8	0.004	5.5	0.008	9.6
ORTA	160	0.39	0.009	2.2	0.007	1.7	0.012	3.1
YÜKSEK	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
İnsan Serumu								
DÜŞÜK	160	0.08	0.007	8.9	0.006	7.2	0.009	11.2
ORTA	160	0.41	0.011	2.6	0.008	2.1	0.015	3.7
YÜKSEK	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

Etkileşime Giren Maddeler

Kılavuz olarak CLSI EP7-A2 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Serum içinde bilinen metotreksat seviyeleriyle (yaklaşık 0.05 ve 0.50 µmol/L) etkileşime girme potansiyeli bulunan aşağıdaki endojenöz maddelerin klinik açıdan yüksek konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Her örnek ARK Metotreksat Testi kullanılarak, metotreksatın bir serum kontrolü ile birlikte test edilmiştir. Metotreksat ölçümü test edilen endojenöz maddelerin seviyelerinde önemli ölçüde etkilenmemiştir.

Etkileşime Giren Maddeler	Etkileşime Giren Madde Konsantrasyonu	Metotreksat (~ 0.05 µmol/L)		Metotreksat (~ 0.50 µmol/L)	
		Serum Kontrolü	Test	Serum Kontrolü	Test (% Kontrolü)
Albümin	12 g/dL	0.05	0.05	0.48	0.50 (103.5)
Bilirubin - konjuge	70 mg/dL	0.05	0.06	0.48	0.49 (101.4)
Bilirubin – konjuge olmamış	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)
Gamma-Globulin	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)
Romatoid Faktör	1080 IU/mL	0.06	0.07	0.46	0.45 (96.7)
Trigliseridler	835 mg/dL	0.05	0.04	0.48	0.48 (98.6)
Ürik Asit	30 mg/dL	0.05	0.06	0.48	0.49 (100.7)

Özgüllük

Metotreksatın metabolitleri, folat analogları ve yapısal benzerlik taşıyan diğer bileşenler, ARK Metotreksat Testi kullanılarak bu bileşenlerin metotreksat konsantrasyonlarının kantitasyonunu etkileyip etkilemediğini belirlemek için test edilmiştir. Bu bileşenlerin yüksek seviyeleri metotreksat içermeyen, 0.05 µmol/L veya 0.50 µmol/L metotreksat içeren serum havuzlarına eklenmiştir. Örnekler analiz edilmiştir ve örneklerin etkileşime giren madde içeren metotreksat konsantrasyonları bir serum kontrolüyle kıyaslanmıştır.

Majör metabolit 7-Hidroksimetotreksat çapraz reaktivitesi

Yüksek dozda metotreksat (HDMTX) uygulandıktan sonra, 7-hidroksimetotreksatın serum/plazma konsantrasyonu tipik olarak daha sonraki zaman noktalarındaki metotreksat konsantrasyonunu aşar. HDMTX uygulanmasından 12 ila 48 saat sonra 7-hidroksimetotreksat seviyelerinin metotreksat seviyelerini 100 kata kadar aştığı bildirilmiştir.^{15, 27, 29, 31, 33-34}

İnsan serumunda (1) 0,05 µmol/L metotreksat ile 5 µmol/L 7 hidrometotreksat ve (2) 0,50 µmol/L metotreksat ile 50 µmol/L 7-hidroksimetotreksat içeren çiftli örnekler test edilerek, ARK Metotreksat Testi için metotreksat ölçümünde 7-hidroksimetotreksat tarafından çapraz reaktivite belirlenmiştir.

ARK Metotreksat testi majör metabolit 7-hidroksimetotreksat ile çapraz reaksiyona (\leq %0.1) girmemiştir.

2,4-Diamino-N10-metilpteroik asit (DAMPA) ile çapraz reaksiyon

Metotreksatın minor bir metaboliti olarak DAMPA'nın metotreksat ölçümüyle etkileşim gösterecek konsantrasyonlarda dolaşımında olması beklenmemektedir.³² Ancak, glukarpidaz kurtarma terapısından sonra, DAMPA'nın serum konsantrasyonu önemli olabilir.^{13, 14} ARK Metotreksat testi minör metabolit DAMPA ile önemli ölçüde çapraz reaksiyon gösterir. Testler ana ilaç metotreksat yokluğunda gerçekleştirilmiştir. DAMPA ile çapraz reaktivite aralığı % 76.3 ila %100 arasındadır. Test, dolaşımdaki metotreksatı hızla DAMPA'ya dönüştüren glukarpidaz (karpoksipeptidaz G2) ile olası insani amaçlı ilaca erken erişim tedavisi sırasında kullanılmamalıdır.

Çapraz reaksiyon gösteren ilaçlar

ARK Metotreksat Testi triamteren ve trimetoprimle biraz çapraz reaksiyon gösterir, ancak birlikte uygulandıkları takdirde ek advers etkiler nedeniyle MTX kanser tedavisi için kontraendike olabilir. Bu bileşenlerin yapıları metotreksatın pteredin halka kısmıyla yakın şekilde uyum sergiler. Metotreksat yokluğunda, triamterene (% 1.15) ve trimetoprim'e (% 0.01) çapraz reaksiyon gözlemlenmiştir. Metotreksat varlığında, triamteren'e (% \leq 3.3) ve trimetoprim'e (% \leq 0.5) çapraz reaksiyon gözlemlenmiştir.

Folat analogları ve diğer bileşiklerle çapraz reaktivite

ARK Metotreksat Testi folat analoglarla veya diğer bileşiklerle \geq 1000 µmol/L'de test edildiğinde çapraz reaksiyon (\leq %0,01) göstermemiştir.

Bileşik	Test Edilen (µmol/L)
Adriamisin	1000
Siklofosamid	1500
Sitosin	1000
Dihidrofolik Asit	1000
DL-6-Metil-5,6,7,8-Tetrahydropterin	1000
Folik Asit	1000
Folinik Asit (lökovorin)	1000
5-Fluorourasil	3000
6-Merkaptopürin	1000
5-Metiltetrahydrofolik asit	1000
Prednizolon	1000
Primetamin	1000
Sülfametoksazol	1600
Tetrahydrofolik Asit	1000
Vinblastin	1000
Vinkristin	1000

13 REFERANSLAR

- 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 Sur- cease—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 TİCARİ MARKALAR

ARK™, ARK Diagnostics, Inc.'e ait bir ticari markadır.

Diğer marka veya ürün isimleri ilgili hak sahiplerinin ticari markalarıdır.