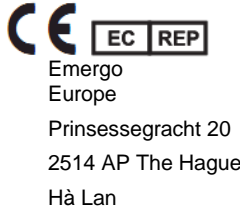


Xét nghiệm ARK™ Methotrexate











Tờ thông tin đi kèm của ARK Diagnostics, Inc. cho xét nghiệm ARK Methotrexate phải được đọc kỹ trước khi sử dụng. Các hướng trên tờ thông tin đi kèm phải được tuân theo một cách phù hợp. Độ tin cậy của kết quả xét nghiệm không thể được đảm bảo nếu có bất kỳ sai lệch nào so với hướng dẫn trong tờ thông tin đi kèm này.

DỊCH VỤ KHÁCH HÀNG

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



CHÚ THÍCH BIỂU TƯỢNG SỬ DỤNG

	Mã lô	 YYYY-MM-DD	Hạn sử dụng/ Ngày hết hạn
	Số danh mục		Nhà sản xuất
	Đại diện được ủy quyền		Dấu CE
	Thiết bị y tế chẩn đoán In Vitro		Giới hạn nhiệt độ
	Tham khảo hướng dẫn sử dụng		Thuốc thử 1/ Thuốc thử 2
RX Only	Chỉ dùng theo toa		

Bộ thuốc thử  5026-0001-00

Bộ thuốc thử  5026-0001-02

Bộ thuốc thử  5026-0001-03

1 TÊN

Xét nghiệm ARK™

2 MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Xét nghiệm ARK Methotrexate là xét nghiệm miễn dịch enzyme đồng nhất nhằm định lượng methotrexate trong huyết thanh hoặc huyết tương người trên máy phân tích sinh hóa tự động. Các kết quả đo thu được được sử dụng trong việc theo dõi mức methotrexate để giúp đảm bảo trị liệu thích hợp.

Mẫu bệnh phẩm của những bệnh nhân đã sử dụng glucarpidase (carboxypeptidase G2) như một liệu pháp bổ sung methotrexate liều cao không nên được thử nghiệm với Xét nghiệm ARK Methotrexate.



3 TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH XÉT NGHIỆM

Methotrexate [N-[4[[[(2,4-diamino-6-pteridinyl) methyl] methylamino]benzoyl]-L-glutamic acid], trước đây là Amethopterin, là một loại thuốc chống di ứng được sử dụng trong điều trị một số bệnh khối u tân sinh, bệnh vẩy nến nặng và viêm khớp dạng thấp ở người trưởng thành.¹⁻³ Methotrexate có khả năng gây độc tính nghiêm trọng. Bệnh nhân đang điều trị bằng methotrexate nên được theo dõi chặt chẽ để phát hiện các tác dụng độc hại kịp thời. Cần tham khảo hướng dẫn điều trị bằng methotrexate với giải cứu leucovorin.¹ Liều methotrexate từ trung bình đến cao (khoảng 35 mg/m² - 12 g/m²) với giải cứu leucovorin (yếu tố citrovorum) đã được sử dụng với kết quả thuận lợi trong điều trị sacrom sinh xương, bệnh bạch cầu, u lympho không Hodgkin, ung thư phổi và ung thư vú.⁴⁻⁸

4 NGUYÊN LÝ CỦA QUY TRÌNH

Xét nghiệm ARK Methotrexate là một xét nghiệm miễn dịch đồng nhất dựa trên sự cạnh tranh giữa thuốc trong mẫu thử và methotrexate được gắn nhãn enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) để gắn với thuốc thử kháng thể. Khi methotrexate gắn với kháng thể, hoạt độ của enzyme giảm. Khi có thuốc thử mẫu thử, hoạt độ của enzyme tăng lên và tỷ lệ thuận với nồng độ thuốc. Enzyme hoạt tính chuyển đổi coenzyme nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) thành NADH được đo bằng phương pháp đo quang phổ dưới dạng động học enzyme. G6PDH nội sinh trong huyết thanh không can thiệp vào kết quả vì coenzyme NAD chỉ hoạt động với enzyme vi khuẩn được sử dụng trong xét nghiệm.



5 THUỐC THỬ

REF	Mô tả sản phẩm	Số lượng/ Thể tích
5026-0001-00 5026-0001-02 5026-0001-03	Xét nghiệm ARK Methotrexate Thuốc thử  – Kháng thể/ Chất nền Kháng thể đa dòng của thỏ kháng methotrexate, glucose-6-phosphate, nicotinamide adenine dinucleotide, albumin huyết thanh bò, chất bảo quản và chất ổn định	1 X 16 mL
	Thuốc thử  – Enzyme methotrexate dán nhãn G6PDH vi khuẩn, chất đệm, albumin huyết thanh bò, chất bảo quản và chất ổn định	1 X 8 mL

Xử lý và bảo quản thuốc thử

Thuốc thử ARK Methotrexate Assay được cung cấp dưới dạng chất lỏng, sẵn sàng để sử dụng và có thể được sử dụng trực tiếp khi lấy ra từ tủ lạnh. Khi không sử dụng, thuốc thử phải được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C (36-46°F), ở tư thế thẳng đứng và có nắp vặn chặt. Nếu được bảo quản theo chỉ dẫn, thuốc thử ổn định cho đến ngày hết hạn được in trên nhãn. Không cấp đông thuốc thử. Tránh tiếp xúc trong thời gian dài với nhiệt độ trên 32°C (90°F). **Bảo quản thuốc thử không đúng cách có thể ảnh hưởng đến hiệu năng xét nghiệm.**

6 CẢNH BÁO VÀ THẬN TRỌNG

- Sử dụng trong **chẩn đoán in vitro**. Chỉ dùng theo toa.
- Thuốc thử  và  được cung cấp dưới dạng một bộ phù hợp và không được hoán đổi với thuốc thử từ các số lô khác nhau.

7 LẤY MẪU THỬ VÀ CHUẨN BỊ PHÂN TÍCH

- Cần có huyết thanh hoặc huyết tương. Để thống nhất, sử dụng cùng một loại mẫu cho từng bệnh nhân là một thực hành tốt phòng xét nghiệm.
- Thời gian lấy mẫu của methotrexate sẽ phụ thuộc vào liều lượng, thời gian truyền và tình trạng lâm sàng của bệnh nhân. Tham khảo các phác đồ điều trị cụ thể về thời gian lấy mẫu.
- Không thể sử dụng máu toàn phần. Các thuốc chống đông máu sau đây có thể được sử dụng với xét nghiệm này.

- Natri heparin
- Liti heparin
- Kali EDTA

- Việc lấy máu phải được thực hiện với các ống lấy máu tương thích để sử dụng cho theo dõi thuốc điều trị (TDM).
- Không tạo bọt và tránh cấp đông và rã đông nhiều lần để bảo vệ tính toàn vẹn của mẫu thử từ khi thu thập cho đến khi thử nghiệm.

- Fibrin, hồng cầu và các chất dạng hạt khác có thể gây ra kết quả sai. Đảm bảo ly tâm đầy đủ.
- Mẫu thử đã làm trong có thể được lưu trữ đến hai tuần ở 2 đến 8°C. Nếu xét nghiệm bị trì hoãn, mẫu thử có thể được lưu trữ đông lạnh ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) trước khi xét nghiệm. Cần thận trọng để hạn chế số chu kỳ cấp đông. Mẫu thử đã được làm trong có thể chịu được 3 chu kỳ cấp đông - rã đông khi được bảo quản ở -20°C .
- Xử lý tất cả các mẫu bệnh phẩm như thể chúng có khả năng lây nhiễm.**

8 QUY TRÌNH

Vật liệu được cung cấp

Xét nghiệm ARK Methotrexate - [REF] 5026-0001-00

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

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

Vật liệu cần thiết - Được cung cấp riêng

Chất hiệu chuẩn ARK Methotrexate - [REF] 5026-0002-00

Kiểm soát chất lượng - Chất kiểm chuẩn ARK Methotrexate - [REF] 5026-0003-00

Dung dịch đệm pha loãng ARK Methotrexate - [REF] 5026-0004-00

Thiết bị

Thuốc thử [R1] và [R2] có thể cần phải được chuyển đến các lọ chứa thuốc thử dành riêng cho máy phân tích trước khi sử dụng. Tránh nhiễm bẩn chéo [R1] và [R2].

Trình tự xét nghiệm

Đề chạy hoặc hiệu chuẩn xét nghiệm, xem hướng dẫn vận hành cụ thể của thiết bị.

Hiệu chuẩn

Thực hiện quy trình hiệu chuẩn đầy đủ (6 điểm) bằng các Chất hiệu chuẩn ARK Methotrexate A, B, C, D, E và F; chạy lặp lại hai lần cho các chất hiệu chuẩn. Cần hiệu chuẩn với mỗi lô thuốc thử mới. Xác nhận đường cong hiệu chuẩn với ít nhất hai mức kiểm soát chất lượng theo kế hoạch đảm bảo chất lượng đã thiết lập của phòng thí nghiệm.

Hiệu chuẩn lại

- Bất cứ khi nào một số lô thuốc thử mới được sử dụng
- Bất cứ khi nào được chỉ định bởi kết quả kiểm soát chất lượng
- Bất cứ khi nào được yêu cầu bởi các quy trình tiêu chuẩn của phòng thí nghiệm

Kiểm soát chất lượng (QC)

Các phòng thí nghiệm nên thiết lập các quy trình QC cho Xét nghiệm ARK Methotrexate. Tất cả các yêu cầu kiểm soát chất lượng và xét nghiệm phải được thực hiện phù hợp với các quy định hoặc yêu cầu được công nhận của địa phương, tiểu bang và/hoặc liên bang.

Thực hành tốt trong phòng thí nghiệm cho thấy rằng ít nhất hai mức (điểm quyết định y tế thấp và cao) kiểm soát chất lượng cần được kiểm tra vào mỗi ngày mẫu bệnh phẩm được xét nghiệm và mỗi lần thực hiện hiệu chuẩn. Theo dõi bất kỳ xu hướng hoặc thay đổi nào của các giá trị kiểm chuẩn. Nếu bất kỳ xu hướng hoặc thay đổi nào được phát hiện, hoặc nếu kiểm chuẩn không phục hồi trong phạm vi chỉ định, hãy xem lại tất cả các thông số vận hành theo quy trình chất lượng của phòng thí nghiệm lâm sàng của bạn. Liên hệ với bộ phận Dịch vụ Khách hàng để được hỗ trợ thêm.

Quy trình pha loãng thủ công

Phạm vi đo của Xét nghiệm ARK Methotrexate là 0,04 - 1,20 $\mu\text{mol/L}$. Mẫu thử và chất kiểm chuẩn có chứa methotrexate ở nồng độ cao hơn ($> 1,20 \mu\text{mol/L}$), được phân tích bằng cách pha loãng mẫu thử và chất kiểm chuẩn trong phạm vi đo.

Pha loãng thủ công mẫu thử hoặc chất kiểm chuẩn nồng độ cao với Dung dịch đệm pha loãng ARK Methotrexate bằng cách chuẩn bị pha loãng liên tiếp mười lần thích hợp như dưới đây.

	Thể tích mẫu	Thể tích dung dịch đệm pha loãng	Tỷ lệ pha loãng	Hệ số pha loãng
50 μL	Mẫu không pha loãng	450 μL	1:10	10
50 μL	Mẫu 1:10	450 μL	1:100	100
50 μL	Mẫu 1:100	450 μL	1:1000	1000
50 μL	Mẫu 1:1000	450 μL	1:10000	10000

$$\text{Hệ số pha loãng thủ công} = \frac{(\text{Thể tích mẫu thử} + \text{Thể tích dung dịch đệm pha loãng})}{\text{Thể tích mẫu thử}}$$

Nhận kết quả xét nghiệm với hệ số pha loãng.

9 KẾT QUẢ

Đề chuyển đổi $\mu\text{mol/L}$ thành $\mu\text{g/mL}$, chia giá trị thu được cho hệ số chuyển đổi là 2.0005.

10 GIỚI HẠN CỦA QUY TRÌNH

Xét nghiệm này được thiết kế để chỉ sử dụng với huyết thanh hoặc huyết tương; tham khảo phần Lấy mẫu và chuẩn bị phân tích. Nói chung, nên sử dụng cùng một phương pháp (cũng như chất gốc) nhất quán cho từng bệnh nhân riêng lẻ do có khả năng thay đổi giữa các phương pháp. Xem phần Giá trị kỳ vọng bên dưới.

Như với tất cả các xác định chất phân tích, giá trị methotrexate nên được sử dụng cùng với thông tin có sẵn từ đánh giá lâm sàng và các thủ tục chẩn đoán khác.

QUAN TRỌNG: Mẫu thử của những bệnh nhân đã sử dụng glucarpidase (carboxypeptidase G2) là một liệu pháp cứu hộ methotrexate liều cao **không** nên được xét nghiệm với Xét nghiệm ARK Methotrexate. Những mẫu thử này đã làm tăng nồng độ trong huyết thanh của 4-[[2,4-diamino-6-(pteridinyl)methyl]-methylamino]-benzoic acid (DAMPA)¹⁰⁻¹² bắt nguồn từ việc chuyển hóa methotrexate bởi glucarpidase. DAMPA phản ứng chéo với kháng thể methotrexate được sử dụng trong xét nghiệm này và có thể tiếp tục lưu hành trong ít nhất năm đến bảy ngày trước khi có thể tiếp tục thực hiện các phép đo methotrexate chính xác.¹³ Các bác sĩ về ung bướu trong nhóm lâm sàng nên thông báo cho phòng thí nghiệm khi glucarpidase được sử dụng để tránh báo cáo nồng độ methotrexate tăng giả do can thiệp bởi DAMPA sẽ gây nhầm lẫn cho những nỗ lực của liệu pháp glucarpidase.¹³ Mặc dù glucarpidase được dung nạp tốt và làm giảm nhanh MTX lưu thông, việc loại bỏ MTX ở thận chậm vẫn có thể là vấn đề đối với bệnh nhân trưởng thành và người già.¹⁴

11 GIÁ TRỊ KỶ VỌNG

Nồng độ methotrexate trong huyết thanh phụ thuộc vào chỉ định sử dụng, liều lượng, phương thức sử dụng, chế độ điều trị, được động học, chuyển hóa và các yếu tố lâm sàng khác.¹³ Mặc dù nồng độ trong huyết thanh thường có thể đạt khoảng 10 đến 100 $\mu\text{mol/L}$ trong điều trị ung thư vú (ví dụ),¹⁵ nồng độ này có thể vượt quá 1000 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁶ khi điều trị liều cao cho bệnh u xương, và lên đến 3100 $\mu\text{mol/L}$ methotrexate đã đạt được sau khi tiêm truyền 4 giờ ở bệnh nhân nhi mắc bệnh xương khớp.¹⁷ Để điều trị bệnh xương khớp,¹⁶ đường cong phân rã có độ biến thiên rộng: 24 giờ, 30 đến 300 $\mu\text{mol/L}$; 48 giờ, 3 đến 30 $\mu\text{mol/L}$; và 72 giờ, ít hơn 0,3 $\mu\text{mol/L}$. Một liều 10 mg leucovorin thường được tiêm tĩnh mạch 24 giờ sau khi bắt đầu truyền MTX. Các liều tiếp theo được điều chỉnh và sử dụng theo các mức MTX thu được sau 24, 48 và 72 giờ. Nồng độ methotrexate vượt quá 50 $\mu\text{mol/L}$ sau 24 giờ, 10 $\mu\text{mol/L}$ sau 48 giờ và 0,5 $\mu\text{mol/L}$ sau 72 giờ cho thấy độc tính tiềm tàng và thường được điều trị bằng cách tăng liều leucovorin theo thuật toán cho đến khi Mức MTX là $< 0,1 \mu\text{mol/L}$. Hướng dẫn điều trị bằng methotrexate với cứu hộ leucovorin thường khuyến nghị sử dụng leucovorin cho đến khi mức methotrexate giảm xuống dưới 0,05 $\mu\text{mol/L}$.^{1, 9} Một số trung tâm tuân theo mức $\leq 0,10 \mu\text{mol/L}$.^{16, 18}

Từ thông tin kê đơn và các thông tin khác: Các chỉ số phòng thí nghiệm về độc tính sau lịch trình cứu hộ leucovorin với methotrexate liều cao.^{1, 9, 19}

Tình huống lâm sàng	Phát hiện trong phòng thí nghiệm	
	Mức Methotrexate ($\mu\text{mol/L}$)	Số giờ sau khi dùng
Loại bỏ Methotrexate bình thường	~10 -1 <0,2	24 48 72
Loại bỏ methotrexate miệng bị trì hoãn	>0,2 >0,05	72 96
Loại bỏ methotrexate sớm bị trì hoãn và/hoặc	≥ 50 ≥ 5 HOẶC	24 48
Bảng chứng tổn thương thận cấp tính	Tăng $\geq 100\%$ trong creatinine huyết thanh	24

Độc tính trên thận là một nguy cơ đáng kể và có thể bị trầm trọng hơn khi dùng chung các thuốc khác,^{14, 19} ví dụ như vancomycin.²⁰ Các dạng độc tính khác có thể xảy ra, bao gồm rối loạn tiêu hóa (ví dụ, buồn nôn, nôn, đau bụng), rối loạn niêm mạc da (đặc biệt là viêm niêm mạc), bất thường về huyết học (ví dụ, giảm bạch cầu và giảm tiểu cầu), rối loạn xét nghiệm chức năng gan và nhiễm độc thần kinh.²¹⁻²⁸ Xét đặc điểm về sự xuất hiện của chất chuyển hóa 7-hydroxymethotrexate,^{15, 27} tỷ lệ mol của nó đối với methotrexate lên tới khoảng 100 lần,²⁹ và không tan tương đối so với thuốc mẹ,^{14, 19} độc tính thận có thể xảy ra do sự kết tủa của chất chuyển hóa trong ống thận²⁹ có thể trì hoãn việc tự loại bỏ methotrexate.

Liệu pháp Glucarpidase (có sẵn để sử dụng dưới dạng cứu trợ khẩn cấp) làm giảm nhanh chóng mức độ lưu hành của methotrexate, không phải thuốc nội bào. Hiệu ứng hồi phục nồng độ methotrexate trong huyết thanh sau khi điều trị bằng glucarpidase đã được quan sát thấy.¹⁴ Việc loại bỏ DAMPA có thể mất vài ngày trước khi nó không còn can thiệp vào việc theo dõi methotrexate bằng xét nghiệm miễn dịch.¹³

12 ĐẶC ĐIỂM HIỆU NĂNG CỤ THỂ

Mỗi phòng thí nghiệm chịu trách nhiệm xác minh hiệu năng bằng cách sử dụng các thông số thiết bị được thiết lập cho máy phân tích của MINH. Các đặc tính hiệu NĂNG sau đây thu được trên Hệ thống Beckman Coulter AU680.

Giới hạn định lượng (LoQ)

Các đặc điểm sau được xác định theo CLSI EP17-A2 cho Xét nghiệm ARK Methotrexate. Hiệu năng của các máy phân tích cụ thể có thể khác nhau.

Tiêu chí	Nồng độ MTX (µmol/L)
Giới hạn trống (LoB); N = 60 µB + 1,645 SD, trong đó SD = 0,002	0,00
Giới hạn phát hiện (LoD); N = 60 LoB + 1,652 SD, trong đó SD = 0,012	0,02
Giới hạn định lượng (LoQ); N = 40 LoQ – 2 SD > LoD	0,04

Mỗi phòng thí nghiệm chịu trách nhiệm xác định các tiêu chí báo cáo về nồng độ methotrexate. Gợi ý sau đây từ CLSI EP17-A2 có thể phù hợp:

Kết quả ≤ LoB báo cáo “không phát hiện; nồng độ < LoD”

LoB < Kết quả < LoQ báo cáo “chất phân tích được phát hiện; nồng độ < LoQ”

Kết quả ≥ LoQ báo cáo kết quả như đã đo

Phạm vi đo lường

Phạm vi đo của Xét nghiệm ARK Methotrexate là 0,04 - 1,20 µmol/L. Mẫu thử có chứa methotrexate ở nồng độ cao hơn được phân tích bằng cách pha loãng mẫu. Báo cáo các giá trị đã được xét nghiệm vượt quá LoD theo thông tin được cung cấp cho LoQ. Nhân kết quả xét nghiệm với hệ số pha loãng đối với mẫu có chứa methotrexate trên phạm vi đo.

Phục hồi

Độ chính xác (phục hồi phân tích) đã được thực hiện bằng cách thêm thuốc methotrexate đậm đặc vào huyết thanh người âm tính với methotrexate. Một chất cô đặc được chứng nhận của methotrexate có độ tinh khiết cao đã được thêm vào thể tích huyết thanh người âm tính với methotrexate, đại diện cho nồng độ thuốc trong phạm vi hiệu chuẩn xét nghiệm. Sáu bản sao của mỗi mẫu được phân tích trên máy phân tích sinh hóa tự động. Các kết quả được tính trung bình và so sánh với nồng độ mục tiêu và phần trăm phục hồi được tính toán. Kết quả được hiển thị dưới đây.

$$\% \text{ Phục hồi} = 100 \times \frac{\text{Nồng độ phục hồi trung bình}}{\text{Nồng độ lý thuyết}}$$

Nồng độ lý thuyết (µmol/L)	Nồng độ phục hồi trung bình (µmol/L)	Phần trăm phục hồi (%)
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

Phần trăm phục hồi trung bình: 104,2

Độ tuyến tính

Các nghiên cứu tuyến tính được thực hiện theo đề xuất trong CLSI EP6-A. Một mẫu huyết thanh 1,40 µmol/L đã được chuẩn bị và pha loãng được thực hiện tương ứng với huyết thanh người âm tính với methotrexate. Xét nghiệm ARK Methotrexate là tuyến tính trong khoảng 0,03 đến 1,20 µmol/L. Kết quả được hiển thị dưới đây.

Lý thuyết (µmol/L)	Kết quả quan sát (µmol/L)	Kết quả dự đoán thứ nhất	Kết quả dự đoán thứ hai	Chênh lệch (µmol/L hoặc %)
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 %

Các mẫu có chứa methotrexate trong khoảng từ 2 đến 1200 µmol/L được chuẩn bị theo tỷ lệ trong huyết thanh người và sau đó được pha loãng trong phạm vi hiệu chuẩn với Dung dịch đậm pha loãng ARK Methotrexate. Hồi quy nồng độ methotrexate đã phân tích là tuyến tính trong toàn phạm vi.

So sánh phương pháp

Các nghiên cứu tương quan đã được thực hiện bằng cách sử dụng CLSI EP9-A3. Kết quả từ xét nghiệm ARK Methotrexate trên máy phân tích Beckman Coulter AU680 được so sánh với kết quả trên máy phân tích Roche/Hitachi 917.

Nồng độ methotrexate của Roche/Hitachi 917 dao động từ 0,04 đến 1050 µmol/L (µM). Giá trị ARK Methotrexate trên Beckman Coulter AU680 dao động từ 0,04 đến 1070 µmol/L. Kết quả phân tích hồi quy Passing-Bablok³⁰ cho nghiên cứu được trình bày dưới đây (với giới hạn tin cậy 95%) cho 112 mẫu trong phạm vi đo cũng như cho tất cả 142 mẫu bao gồm cả các mẫu trên phạm vi đo cần pha loãng.

Thông số	Phạm vi 0,04 đến 1,11 µM		Phạm vi 0,04 đến 1050 µM	
Hệ số góc	0,99	(0,96 đến 1,00)	1,00	(1,00 đến 1,02)
Hệ số chặn y	0,00	(0,00 đến 0,01)	0,00	(0,00 đến 0,00)
Hệ số tương quan (r ²)	0,98	(0,97 đến 0,98)	1,00	(1,00 đến 1,00)
Số mẫu	112	NA	142	NA

Độ chụm

Độ chụm được xác định như được mô tả trong CLSI EP5-A3. Chất kiểm chuẩn ARK Methotrexate sáu mức và huyết thanh người tổng hợp có chứa methotrexate đã được sử dụng trong nghiên cứu. Mỗi mức đã được xét nghiệm trong bốn lần hai lần một ngày trong 20 ngày. Mỗi lần chạy mỗi ngày được cách nhau ít nhất hai giờ. SD trong lần chạy, giữa các ngày, tổng SD và phần trăm CV đã được tính toán. Kết quả được hiển thị dưới đây. Tiêu chí chấp nhận: ≤ 10% tổng CV ở mức > 0,1 µmol/L, SD ≤ 0,01 ở mức ≤ 0,1 µmol/L.

Mẫu	N	Trung vị (µmol/L)	Trong lần chạy CV (%)		Giữa các ngày CV (%)		Tổng CV (%)	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
Chất kiểm chuẩn ARK Methotrexate								
LOW	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
HIGH	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
Huyết thanh người								
LOW	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
HIGH	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

Các chất can thiệp

Các nghiên cứu can thiệp được thực hiện bằng cách sử dụng CLSI EP7-A2 làm hướng dẫn. Nồng độ cao trên lâm sàng của các chất nội sinh có khả năng can thiệp như dưới đây trong huyết thanh với nồng độ methotrexate đã biết (khoảng 0,05 và 0,50 µmol/L) đã được đánh giá. Mỗi mẫu được phân tích bằng Xét nghiệm ARK Methotrexate, cùng với chất kiểm chuẩn huyết thanh của Methotrexate. Đo methotrexate không bị ảnh hưởng đáng kể ở mức độ các chất nội sinh được xét nghiệm.

Chất Can thiệp	Nồng độ chất can thiệp	Methotrexate (~ 0,05 µmol/L)		Methotrexate (~ 0,50 µmol/L)	
		Chất kiểm chuẩn huyết thanh	Xét nghiệm	Chất kiểm chuẩn huyết thanh	Xét nghiệm (% Chất kiểm chuẩn)
Albumin	12 g/dL	0,05	0,05	0,48	0,50 (103,5)
Bilirubin – trực tiếp	70 mg/dL	0,05	0,06	0,48	0,49 (101,4)
Bilirubin - gián tiếp	70 mg/dL	0,05	0,05	0,48	0,48 (101,4)
Cholesterol	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)
Yếu tố dạng thấp	1080 IU/mL	0,06	0,07	0,46	0,45 (96,7)
Triglycerides	835 mg/dL	0,05	0,04	0,48	0,48 (98,6)
Axit uric	30 mg/dL	0,05	0,06	0,48	0,49 (100,7)

Độ đặc hiệu

Các chất chuyển hóa methotrexate, chất tương tự folate và các hợp chất khác có cấu trúc tương tự đã được xét nghiệm để xác định xem các hợp chất này có ảnh hưởng đến việc định lượng nồng độ methotrexate bằng cách sử dụng Xét nghiệm ARK Methotrexate hay không. Nồng độ cao của các hợp chất này được đưa vào bề huyết thanh không chứa methotrexate, chứa 0,05 µmol/L hoặc 0,50 µmol/L methotrexate. Các mẫu được phân tích và nồng độ methotrexate của các mẫu có chứa chất can thiệp được so sánh với chất kiểm chuẩn huyết thanh.

Phản ứng chéo với 7-Hydroxymethotrexate, chất chuyển hóa chính

Sau khi dùng methotrexate liều cao (HDMTX), nồng độ 7-hydroxymethotrexate trong huyết thanh/huyết tương thường vượt quá nồng độ methotrexate ở các thời điểm sau đó. Các mức 7-hydroxymethotrexate được báo cáo là vượt quá các mức của methotrexate lên đến 100 lần trong 12 đến 48 giờ sau khi dùng HDMTX.^{15, 27, 29, 31, 33-34} Khả năng phản ứng chéo của 7-hydroxymethotrexate trong phép đo methotrexate đã được xác định đối với Xét nghiệm ARK Methotrexate bằng cách xét nghiệm các mẫu được ghép chứa (1) cả 0,05 µmol/L methotrexate và 5 µmol/L 7-hydroxymethotrexate và (2) 50 µmol/L 7-hydroxymethotrexate trong huyết thanh người.

Xét nghiệm ARK Methotrexate không phản ứng chéo ($\leq 0,1\%$) với chất chuyển hóa chính 7-hydroxymethotrexate.

Phản ứng chéo với axit 2,4-Diamino-N¹⁰-methylpterico (DAMPA)

Là một chất chuyển hóa nhỏ của methotrexate, DAMPA dự kiến sẽ không lưu hành ở nồng độ gây cản trở trong việc đo methotrexate.³² Tuy nhiên, sau khi điều trị bằng glucarpidase, nồng độ DAMPA trong huyết thanh có thể đáng kể.^{13, 14} Xét nghiệm ARK Methotrexate phản ứng chéo đáng kể với chất chuyển hóa nhỏ DAMPA. Các xét nghiệm đã được thực hiện trong trường hợp không có thuốc methotrexate mẹ. Khả năng phản ứng chéo với DAMPA dao động từ 76,3% đến 100% dựa trên dữ liệu được quan sát. Không nên sử dụng xét nghiệm trong khi điều trị cứu trợ khẩn cấp với glucarpidase (carboxypeptidase G2) chuyển đổi nhanh methotrexate lưu hành thành DAMPA.

Các thuốc phản ứng chéo

Xét nghiệm ARK Methotrexate phản ứng nhẹ với triamterene và trimethoprim, tuy nhiên những thuốc này có thể chống chỉ định trong điều trị ung thư MTX do tác dụng phụ bổ sung nếu dùng chung. Các cấu trúc của các hợp chất này phù hợp chặt chẽ với nửa vòng pteridine của methotrexate. Trong trường hợp không có methotrexate, quan sát thấy có phản ứng chéo với triamterene (1,15%) và trimethoprim (0,01%). Khi có methotrexate, có phản ứng chéo với triamterene ($\leq 3,3\%$) và trimethoprim ($\leq 0,5\%$) dựa trên dữ liệu quan sát được.

Phản ứng chéo với các chất tương tự folate và các hợp chất khác

Xét nghiệm ARK Methotrexate không phản ứng chéo ($\leq 0,01\%$) với các chất tương tự folate hoặc các hợp chất khác ở mức ≥ 1000 µmol/L như đã được xét nghiệm.

Hợp chất	Xét nghiệm (µmol/L)
Adriamycin	1000
Cyclophosphamide	1500
Cytosine	1000
Dihydrofolic Acid	1000
DL-6-Methyl-5,6,7,8-Tetrahydropterine	1000
Folic Acid	1000
Folinic Acid (leucovorin)	1000
5-Fluorouracil	3000
6-Mercaptopurine	1000
5-Methyltetrahydrofolic acid	1000
Prednisolone	1000
Pyrimethamine	1000
Sulfamethoxazole	1600
Tetrahydrofolic Acid	1000
Vinblastine	1000
Vincristine	1000

13 TÀI LIỆU THAM KHẢO

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. Bromowitch, 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 lympho-blastic 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 Surrogate—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. Ertmann, 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 THƯƠNG HIỆU

ARK™ là một thương hiệu của ARK Diagnostics, Inc.

Tên thương hiệu hoặc sản phẩm khác là nhãn hiệu của chủ sở hữu tương ứng.



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

In tại Hoa Kỳ
Sửa đổi vào Tháng 8/ 2020
1600-0213-00 Rev 08