

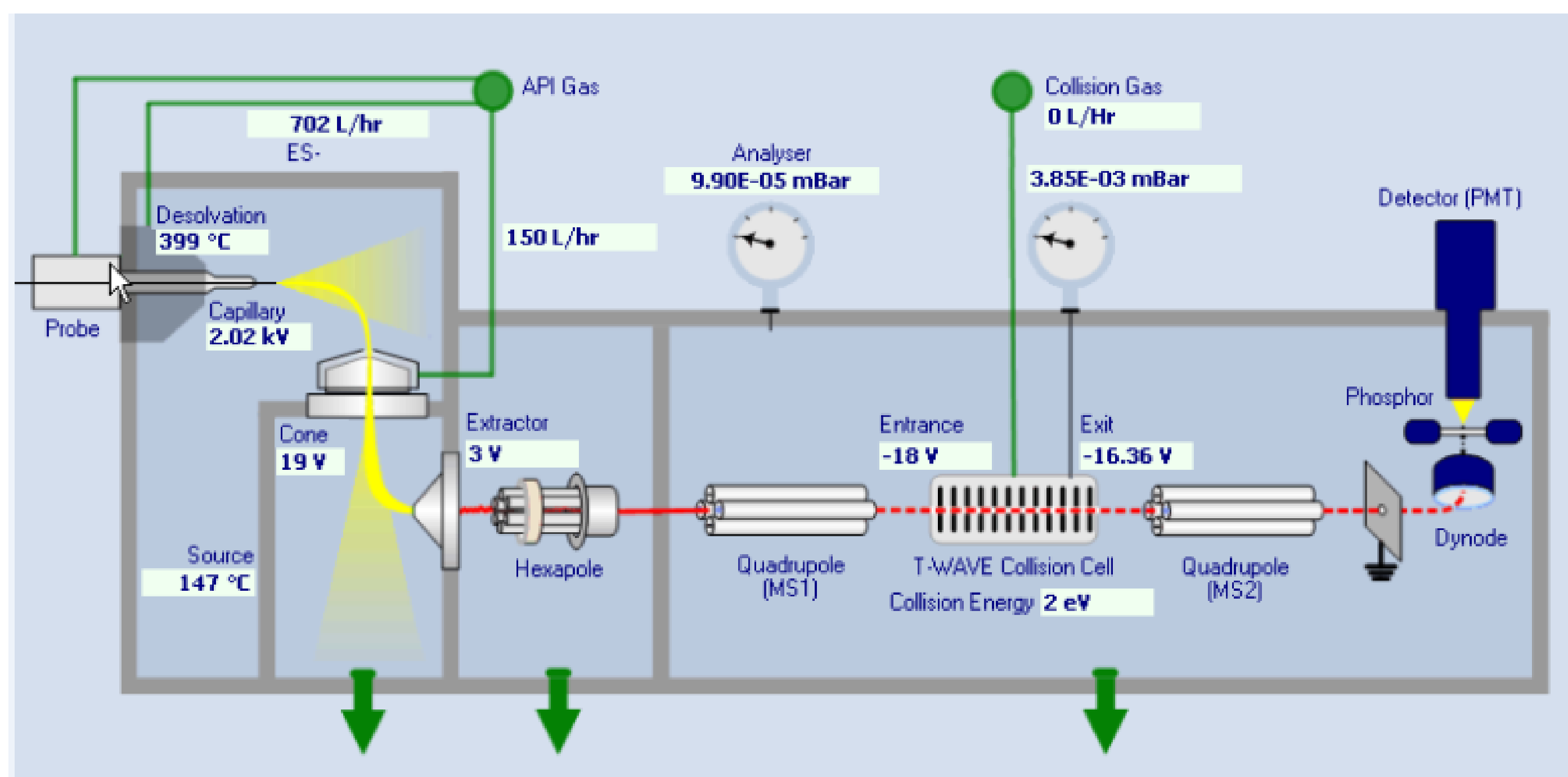
# Validatie Kit Recipe Anti-epileptica

Jef Vannieuwenborgh, N. Peersman en Apr. Klin. Biol. N. Van den Eede

UZ Leuven: Speciale Chemie

## Inleiding

Het doel van dit onderzoek is de validatie van een kit van Recipe (ClinMass) van 12 anti-epileptica. Deze werd gemeten via twee methodes, eerst met de routinemethode in het UZ Leuven en daarna met een kit van Recipe voor deze anti-epileptica. Bij beide methodes wordt een Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) gebruikt met elektropray ionisatie (figuur 1). Deze studie is om te zien of de kit voldoet aan de vooropgestelde kwaliteitseisen en of er met de huidige methode met noodzakelijke aanpassingen aan dezelfde eisen wordt voldaan. In tabel 1 staan de 12 verschillende anti-epileptica die gemeten werden met de kit. Anti-epileptica worden gemeten voor het opvolgen van patiënten of ze deze wel of niet juist nemen of om te kijken of de dosis verhoogd moet worden. Het wordt ook nagekeken bij oude mensen en bij zwangere vrouwen of bij vrouwen die de pil nemen en bij kinderen.

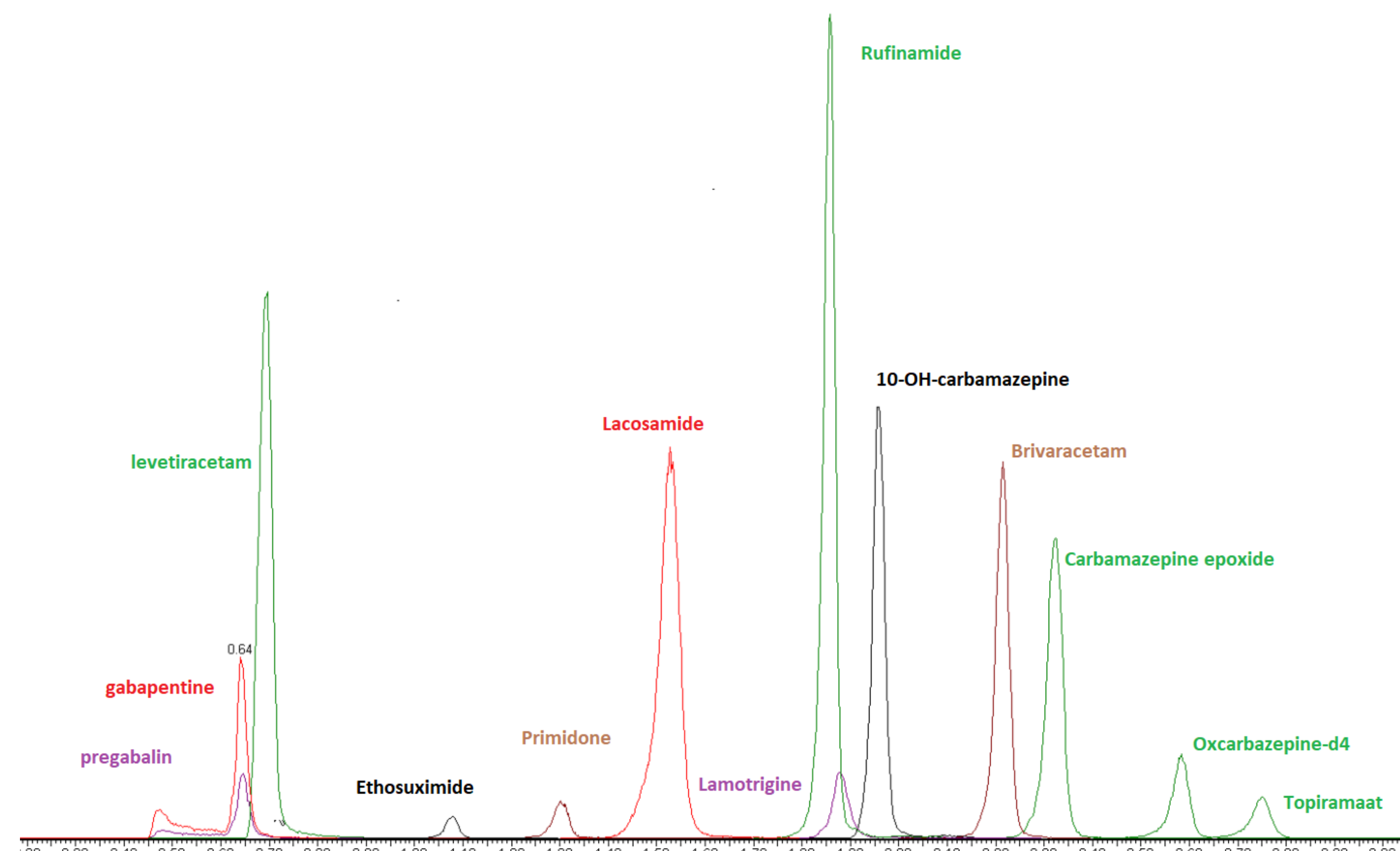


Figuur 1: Massaspectrometrie MS/MS

## Materiaal en Methode

Bij de validatie werden de ClinMass kit van Recipe (München, Duitsland) met bijbehorende reagentia (Curve, inwendige standaard, mobiele fases, purge en wasoplossing) en de Clin-Check kit van Recipe (interne kwaliteitscontroles) gebruikt. Als staalvoorbereiding werd er een proteïneprecipitatie gedaan van de curve, interne kwaliteitscontroles of andere stalen en een inwendige standaard. De scheiding werd uitgevoerd met een UPLC-MS/MS, namelijk de Acquity TQD van Waters, op een kolom met een gradiënt mobiele fase. De validatie bestond uit het meten van de lineariteit en de carry over voor alle componenten. De precisie en de juistheid werden gemeten voor Lamotrigine en Ethosuximide en het matrixeffect werd gemeten voor Lamotrigine. Voor de validatie werd er ook een methodevergelijking van Lamotrigine uitgevoerd.

## Resultaten & Discussie



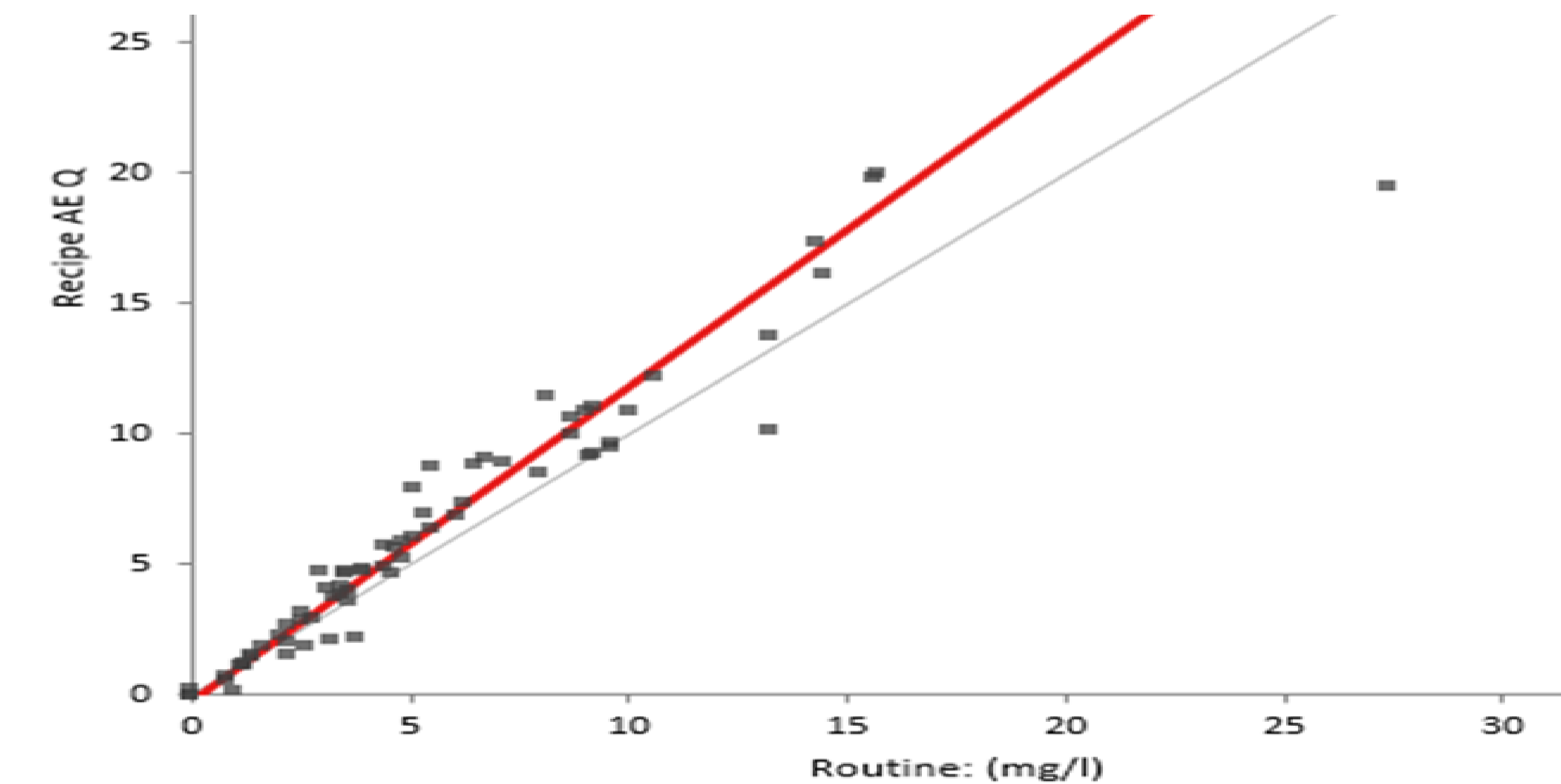
Figuur 2: Chromatogrammen anti-epileptica

De verschillende anti-epileptica elueerden in bovenstaande volgorde (figuur 2). Alle variatiecoëfficiënten van de interne kwaliteitscontroles lagen onder de 15% (tabel 1). Echter voor patiëntenstalen had Lamotrigine een precisie van 16-17% wat niet voldeed aan de eisen. De externe kwaliteitscontroles hadden voor Lamotrigine een gemiddelde juistheid tussen 87-113% en een gemiddelde Z-score tussen -3 en 3. Echter wisselden de verschillende percentages van lamotrigine tussen de 79-134% en de Z-scores tussen de -1,5-5,7 wat een niet aanvaardbare juistheid aantoonde. Voor Ethosuximide lagen de gemiddeldes niet tussen deze waarden wat ook wijst op een niet aanvaardbaar resultaat. Bij zowel Ethosuximide als bij Lamotrigine lagen drie van de tien Z-scores van de externe kwaliteitscontroles hoger dan 3 of lager dan -3. De kit was lineair over heel het bereik opgegeven door de firma (tabel 1) met een  $R^2$  groter dan 0,998 en er was geen carry over.

Tabel 1: Lineair bereik Kit en Resultaten Precisie

Anti-Epileptica	Lineariteit (mg/L)	Precisie (%)		
		Curve (mg/L)	Level I	Level II
10-OH-Carbamazepine	0,013-131		3%	2%
Brivaracetam	0,025-15		4%	3%
Carbamazepine-epoxide	0,0026-26,2		5%	7%
Ethosuximide	0,349-524		4%	4%
Gabapentine	0,25-96,5		7%	5%
Lacosamide	0,05-48,2		3%	1%
Lamotrigine	0,05-48,2		10%	10%
Levetiracetam	0,4-400		3%	3%
Pregabaline	0,05-96,5		7%	6%
Primidone	0,0218-131		2%	4%
Rufinamide	0,05-96,5		4%	3%
Topiramaat	0,05-96,5		3%	2%

## Resultaten & Discussie



Figuur 3: Passing-Bablok Fit Grafiek Methodevergelijking Lamotrigine

Voor de methodevergelijking werd een Passing-Bablok Fit grafiek van het percentage overeenkomst uitgezet (figuur 3). De grafiek had een richtingscoëfficiënt van 1,206 wat niet tussen de 0,85-1,15 lag en dus geen aanvaardbare overeenkomst was. Het intercept van de grafiek was -0,207 wat kleiner is dan 10% van de ondergrens van de referentiewaarden voor Lamotrigine (2,5 mg/L). De recovery, het matrixeffect en de procesefficiëntie lagen rond de 100% (zie tabel 2) wat erop wijst dat er doorheen het proces van UPLC-MS/MS geen verlies of winst aanwezig was.

Tabel 2: Resultaten matrixeffect, recovery en procesefficiëntie

Samenvatting	Area Lamotrigine	Area Ethosuximide
Gemiddelde recovery	101%	104%
%CV	3%	5%
Gemiddeld matrixeffect	92%	91%
%CV	5%	5%
Gemiddeld procesefficiëntie	93%	95%
%CV	4%	3%

## Besluit

Voor de validatie van de ClinMass kit van Recipe van 12 anti-epileptica worden via UPLC-MS/MS verschillende testen afgelegd. De lineariteit, carry over zijn aanvaardbaar voor alle componenten. Matrixeffect is aanvaardbaar voor Lamotrigine. De precisie, de juistheid en de methodevergelijking zijn niet aanvaardbaar voor zowel Lamotrigine als Ethosuximide. Om de kit in de routine te kunnen laten lopen is er nog verder onderzoek voor nodig.