

Validatie Kit Recipe Antimycotica

W. De Mulder, Ing. N. Peersman

Universitair Ziekenhuis Leuven, Speciale Chemie en Toxicologie



Introductie

Schimmelinfecties bij immuungecompromitteerde patiënten is een vaak voorkomend probleem. Om deze infecties op een effectieve manier te bestrijden worden er antifungale middelen zoals voriconazole, posaconazole, isavuconazole, fluconazole of itraconazole voorgeschreven. Omdat al deze stoffen werken binnen zeer nauwe concentratiegebieden is het belangrijk dat er aan therapeutic drug monitoring (TDM) gedaan wordt. [1,2] In het Universitair Ziekenhuis te Leuven gebeurt TDM van deze 5 antimycotica (AM) door middel van 2 verschillende Ultra high performance Liquid Chromatography Mass Spectroscopy/Mass Spectroscopy (UPLC MS/MS) methoden. Dit project omvat een validatie van een kit van Recipe die deze 5 AM samenbrengt in één methode op een nieuw toestel. Voor deze validatie wordt de kit getest op een aantal parameters zoals de precisie, de juistheid en de stabiliteit. Via dit project zal er dan finaal een besluit getrokken kunnen worden of de kit aan de vooropgestelde kwaliteitseisen voldoet en of deze geïmplementeerd kan worden in de routine van het UZ Leuven.



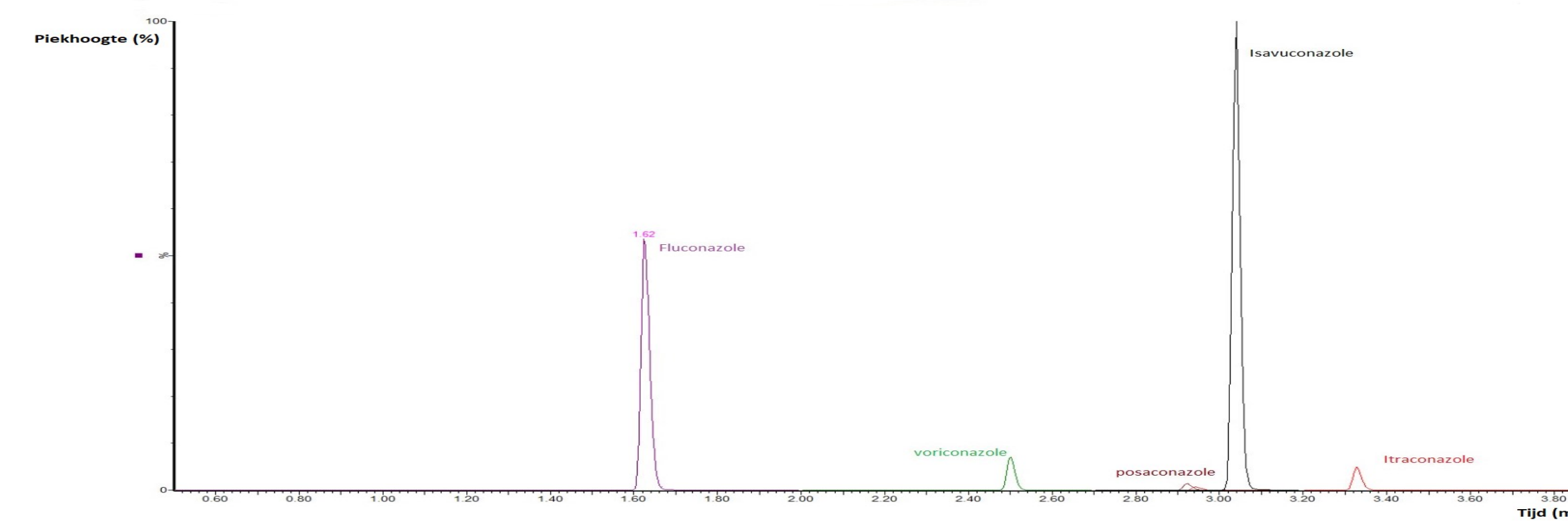
Figuur 1 UPLC MS/MS toestel van Waters, XS model waar de kitmethode op toegepast werd

Materialen en Methodes

De kit (Clinmass Recipe, Duitsland) die werd gevalideerd, bevatte de inwendige standaard (IS) oplossingen en de kalibratoren (vier concentratieniveaus). De mobiele fase A was een acetonitrile/water (93/7) mengsel met 10 mM Ammonium formiaat en 0.1% mierenzuur. Mobile fase B bestond uit water met 10 mM Ammoniumformiaat en 0.1% mierenzuur. [3] De analyses werden telkens uitgevoerd op het UPLC-TQXS toestel (Waters, Acquity I-Class Plus-Xevo TQXS) in combinatie met een UPLC kolom (Waters, Acquity UPLC HSS T3 1,8µm). [4]

Als eerste werd de precisie bepaald. Hierbij werd er een maximale afwijking van 15% getolereerd. Ook werd de juistheid nagegaan. Deze test werd beoordeeld op basis van z-scores ($z < 3$). Vervolgens werd de lineariteit van de Recipe curve en de in huis gemaakte curve geëvalueerd. De r^2 van deze curves moesten groter of gelijk zijn aan 0,99. Verder werden er twee methodes voor de AM te analyseren vergeleken (routine versus kit). Hierbij werden er in totaal 179 stalen geanalyseerd door beide methodes. De maximale afwijking bedroeg 15% ten opzichte van elkaar. Als laatste test voor dit project werd er gekozen om de stabiliteit te testen op 4°C met ook een maximale toelaatbare afwijking van 15%.

Resultaten



Figuur 2 Chromatogram van de lage interne kwaliteitsevaluatie (IKE) van de Recipe kit

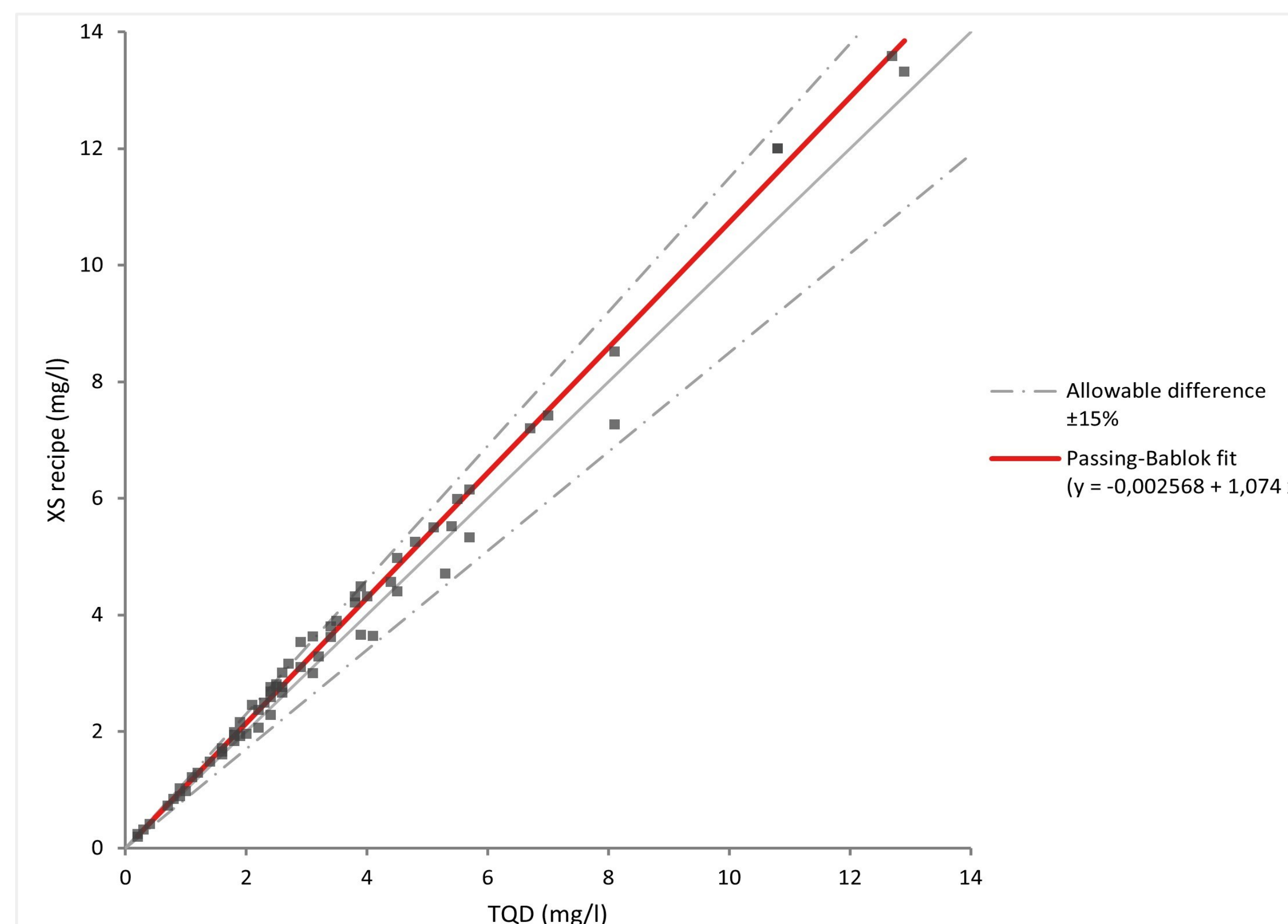
Precisie, Juistheid en Lineariteit:

Tabel 1 resultaten precisie, juistheid, lineair bereik en r^2

	Precisie (CV%)	Juistheid (Gemiddelde z-score)	Lineair bereik (mg/L)	r^2
Voriconazole	5,5	0,67	0,2-20	1,00
Posaconazole	7,5	-0,87	0,2-20	1,00
Fluconazole	8,0	-1,5	0,7-40	1,00
Itraconazole	7,0	0,23	0,14-20	1,00
Isavuconazole	5,0	0,1	0,2-20	1,00

Methodevergelijking:

De methodevergelijking wees uit dat er voor zowel voriconazole als voor isavuconazole een goede overeenkomst werd behaald. Ook de andere AM behaalde voor deze test goede resultaten, maar er zijn te weinig stalen geanalyseerd. De resultaten weken nooit meer dan 20% van elkaar af.



Figuur 3 Grafiek met methodevergelijking voor de voriconazole concentratie gemeten op het TQD toestel in functie van de voriconazole concentratie gemeten op het XS toestel (Analyse-It versie v5.65.3)

Discussie

Binnen het UZ Leuven zal het binnenkort mogelijk zijn om 5 AM (voriconazole, posaconazole, isavuconazole, itraconazole en fluconazole) voor TDM te analyseren via de nieuwe UPLC MS/MS methode. Uit de validatie kan geconcludeerd worden dat de Recipe kit herhaalbaar en betrouwbaar is voor alle AM. Ook is er een goede correlatie tussen de 2 methodes waardoor kan gesteld worden dat er geen groot verschil is tussen beide analysemethodes en dat er wel degelijk een overdracht mogelijk is voor de analyse van het TQD routinetoestel naar het TQXS toestel. Als laatste kan er ook geconcludeerd worden dat alle stalen stabiel blijven bij 4°C over een periode van 1 week. Dit is voldoende tijd aangezien de analyse drie keer per week wordt aangevraagd.

Conclusie

De resultaten van de validatie voldoen aan de voorwaarden en zullen meegenomen worden om het validatiedossier te vervolledigen voor de Recipe kit. De methode zal daarom ook geïmplementeerd worden in de routine en zo kan de TDM van antimycotica in het UZ Leuven efficiënter gebeuren.

Dankwoord

Veel dank aan de gehele dienst Toxicologie en Speciale Chemie voor de flexibiliteit en goede uitleg tijdens de stageperiode. Ook speciale dank aan Ing. N. Peersman voor het begeleiden van de stage en het project.

Referenties

1. Pauwels S, Lagrou K. Leermodule, CAT Critically Appraised Topic Voriconazoledosage: voor wie nuttig?. [Geraadpleegd op 5 december 2022]. Beschikbaar op UZ Leuven.
2. Gomez-Lopez A. Antifungal therapeutic drug monitoring: focus on drugs without a clear recommendation. CMI. November 1 2020; 26(11): 1481-1487. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.05.037>
3. LAG-UZ Leuven. Modus operandi voor de bepaling van acylcarnitine in plasma en Gu thrie. UZ Leuven; 2022; SOP-102 BLG-28
4. Waters. www.waters.com [Internet]. [geraadpleegd op 20 december 2022]. Beschikbaar op <https://www.waters.com/nextgen/be/en.html>.
5. tabel (1) en figuren (1, 2 en 3): eigen werk