

Monitoring van anti-epileptica: een klinische verificatie van *Volumetric Absorptive Micro Sampling*

Therapeutic drug monitoring van anti-epileptica kan dienen als een waardevol hulpmiddel in het optimaliseren en individualiseren van de behandeling van epilepsie. Ongelukkigerwijs wordt *Therapeutic drug monitoring* vaak sub-optimaal uitgevoerd door beperkingen in het bepalen van de dalspiegel. Deze bijdrage geeft een beschrijving van *Volumetric Absorptive Micro Sampling*, een nieuwe thuis-bloedafnamemethode, die dit probleem zou kunnen oplossen.

Therapeutic drug monitoring (TDM) kan een positief effect hebben op de behandeling van epilepsiepatiënten, vooral voor kwetsbare groepen zoals kinderen, zwangeren en ouderen, doordat er grote inter-individuele variaties bestaan in dosis-responsrelaties (Jacob & Nair, 2016). Ongeveer 30% van de epilepsiepatiënten is voor adequate aanvalscontrole afhankelijk van polytherapie. Polytherapie vergroot de kans op mogelijke medicatie-interacties. Ook leeftijd-gerelateerde afname van de afbraak van medicatie en individuele verschillen in gevoeligheid door genetische factoren of door comorbiditeit maken de behandeling met anti-epileptica (AED) erg persoonlijk (Ipadre et al, 2018). Dosis-responsrelaties kunnen daardoor over de tijd veranderen (Sourbon et al, 2018). TDM kan hierbij dienen als een waardevol hulpmiddel. Voor een optimaal effect van TDM is het belangrijk om de bloedafname voor de inname van de medicatie uit te voeren (dalspiegel) maar helaas is dit bij patiënten die niet zijn opgenomen in het ziekenhuis meestal niet mogelijk. Daarom hebben wij een nieuwe thuis-bloedafnamemethode, genaamd *Volumetric Absorptive Micro Sampling* (VAMS), onderzocht op bruikbaarheid voor het meten van bloedspiegels van een groot aantal anti-epileptica (Canisius et al, 2020).

Volumetric Absorptive Micro Sampling

VAMS is een methode waarbij een patiënt zelf middels een vingerprik bloed afneemt. De kleine hoeveelheid bloed (10µL) wordt opgevangen in de Mitra-microsampler, een speciaal ontwikkeld mini-sponsje. De bemonsterde Mitra-microsampler kan vervolgens per gewone post naar het laboratorium worden verstuurd. In tegenstelling tot

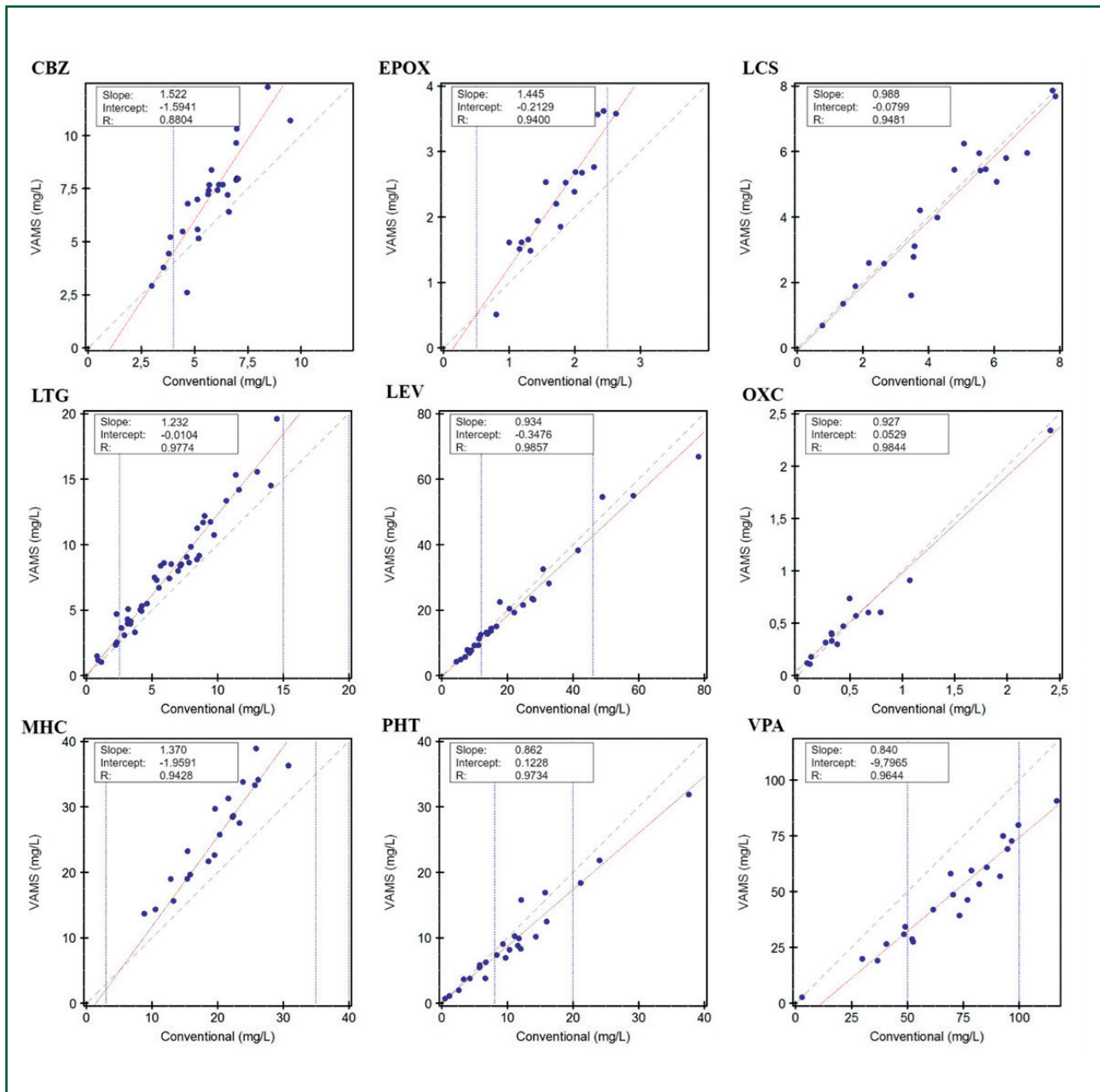
reguliere bloedsamples vereisen VAMS-samples door een combinatie van factoren (zoals het opgedroogd zijn van het bloed, temperatuurwisselingen en vertragingen in analysetijd) een specifieke analysemethode. Hiertoe hebben wij een *high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (HPLC-MS) methode opgezet, waarmee bloed uit de Mitra-microsampler kan worden geëxtraheerd en geanalyseerd, om vervolgens succesvol de concentratie van zestien verschillende AEDs te bepalen. Binnen de evaluatie is er gefocust op (I) of het hematocriet invloed heeft op de uitslag, (II) of de VAMS-analysemethode dezelfde resultaten genereert als de conventionele analysemethode in plasma (bloed/plasma ratio's), (III) hoe lang de AED-concentratie stabiel blijft in de Mitra-microsampler en (IV) of temperatuur invloed heeft op de stabiliteit. Tenslotte is door middel van een korte pilotstudie onderzocht hoe haalbaar en patiëntvriendelijk VAMS is.

De studie

Voor de ontwikkeling van de Mitra-microsampler analysemethode zijn bloedmonsters van 138 patiënten verzameld via venapuncties in het Academisch Centrum voor Epileptologie Kempenhaeghe. De evaluatie van VAMS bestaat uit vergelijkingen van drie HPLC-MS-technieken: conventioneel (serum), VAMS (bloed) en bloed (standaard volume bloed). De eerste stap in de evaluatie was controleren of de VAMS analysemethode voldoende gedroogd bloed uit de Mitra-microsampler extraheert en analyseert (*recovery*). Hiervoor is er een vergelijking opgesteld tussen VAMS en bloed, waarbij beide gebruik maken van de VAMS analysemethode met dezelfde volumes, alleen maakt de bloed-

analysemethode geen gebruik van de Mitra-microsampler. Vervolgens is geverifieerd of de AED-uitslag gelijk bleef bij verschillende hematocrietwaarden als gebruikt wordt gemaakt van VAMS. Aansluitend is bepaald of de VAMS analysemethode daadwerkelijk dezelfde resultaten genereert als de conventionele methode. Aangezien VAMS de AED-concentratie bepaalt in bloed, in tegenstelling tot conventioneel, die de concentratie bepaalt in plasma, werd hier een verschil verwacht, de zogenaamde bloed/plasma ratio's. Vanwege het feit dat de samples enige tijd onderweg zijn met de reguliere post is onderzocht of bewaartijd (in

dagen) en temperatuur invloed hebben op de stabiliteit van de AEDs. Om in de invloed van temperatuur te analyseren zijn twee gangbare temperaturen gebruikt binnen de laboratorium diagnostiek, namelijk 37°C en -20°C. Voor het bepalen van de stabiliteit zijn Mitra-microsamplers bemonsterd, hiervoor is bloed gebruikt *gespiked* met 16 verschillende AEDs. De analyse van de stabiliteit bestaat uit het telkens meten van vier bemonsterde Mitra-microsamplers per conditie (met tijd en temperatuur als variabelen). Als resultaat zijn er 20 bemonsterde Mitra-microsamplers bewaard bij kamertemperatuur en gemeten op dag 0,1,2,3



Figuur 1 Methodevergelijking tussen VAMS en conventionele (conventional) methode. Correlaties tussen de VAMS-methode en de conventionele methode worden getoond voor CBZ (carbamazepine) (n = 29), EPOX (carbamazepine-10,11-epoxide) (n = 18), LCS (lacosamide) (n = 20), LTG (lamotrigine) (n = 44), LEV (levetiracetam) (n = 31), OXC (oxcarbazepine) (n = 15), MHC (10-monohydroxy carbamazepine) (n = 20), PHT (fenytoïne) (n = 24), VPA (valproïnezuur) (n = 22). De zwarte stippellijn vertegenwoordigt de identiteitslijn (1:1 lijn tussen methoden) tussen de twee methoden en de rode stippellijn toont de Passing-Bablok-regressie. De blauwe stippellijnen vertegenwoordigen de boven- en ondergrenzen van het therapeutische bereik zoals gebruikt bij de conventionele methode.

en 7. Daarnaast zijn er acht Mitra-microsamplers bewaard bij -20°C en gemeten op dag 1 en 7. Eveneens zijn er acht Mitra-microsamplers bewaard bij 37°C en gemeten na twee uur en 48 uur. Ten slotte includeerden we 55 patiënten in een pilotstudie waarbij gebruik is gemaakt van de VAMS-methode in hun thuissituatie. Deze patiënten vulden een vragenlijst in over het gemak, de patiëntvriendelijkheid en de eventuele noodzaak van de VAMS-methode.

Resultaten

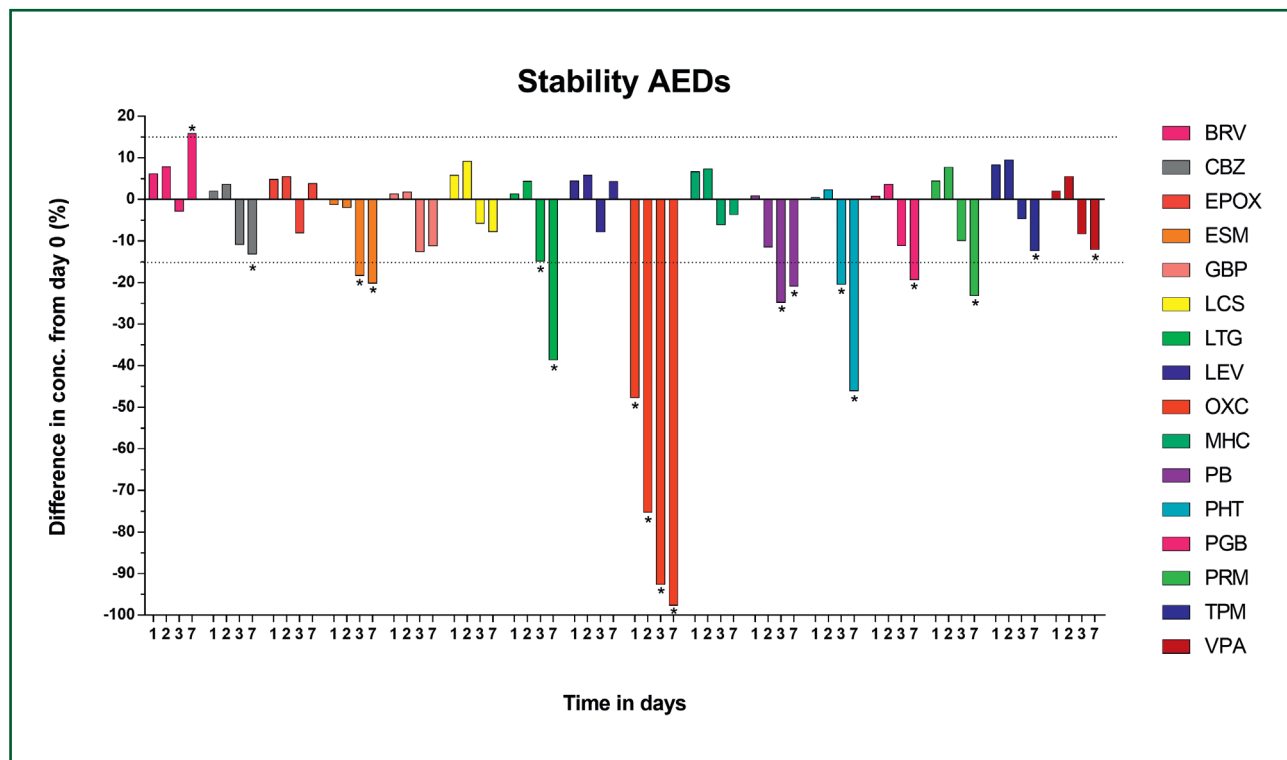
Bij alle geteste AEDs werden hoge *recovery* correlaties terug gevonden tussen VAMS en bloed ($R > 0.90$). Dit betekent dat voldoende bloed uit de Mitra-microsampler wordt geëxtraheerd en geanalyseerd. Door polytherapie geven de 138 gemeten patiënten monsters in totaal 242 individuele AED-bepalingen. De *recovery*'s van deze 242 bepalingen zijn uitgezet tegenover het hematocriet van de betreffende patiënt. De regressieanalyse gaf aan dat een hematocrietwaarde tussen de 0.3 – 0.55 L/L geen significant effect heeft op de *recovery*. Figuur 1 presenteert de Passing-Bablok analyse tussen conventioneel en VAMS. De precisie van de methode is hoog ($R > 0.90$) voor alle AEDs behalve CBZ ($R = 0.88$); het verschil in lineariteit (helling lijn) wordt veroorzaakt door het verschil in de analysematrix (bloed/plasma ratio).

Stabiliteit

De stabiliteit van de AEDs in de Mitra-microsamplers is weergegeven in figuur 2. De concentraties zijn gestandaardiseerd naar procenten, waarin het gemiddelde van dag 0 (controle-dag) gezet is op 100%. Figuur 2 presenteert het verschil in percentage van dag 1, 2, 3 en 7 met de controle-dag. AED-concentraties werden als significant veranderd beschouwd als de gemiddelde concentratie van de vier metingen van een dag buiten het tweemaal-standaarddeviatiegebied van de controle-dag viel. Figuur 3 presenteert de stabiliteit bij -20°C en 37°C.

Patiëntvriendelijkheid

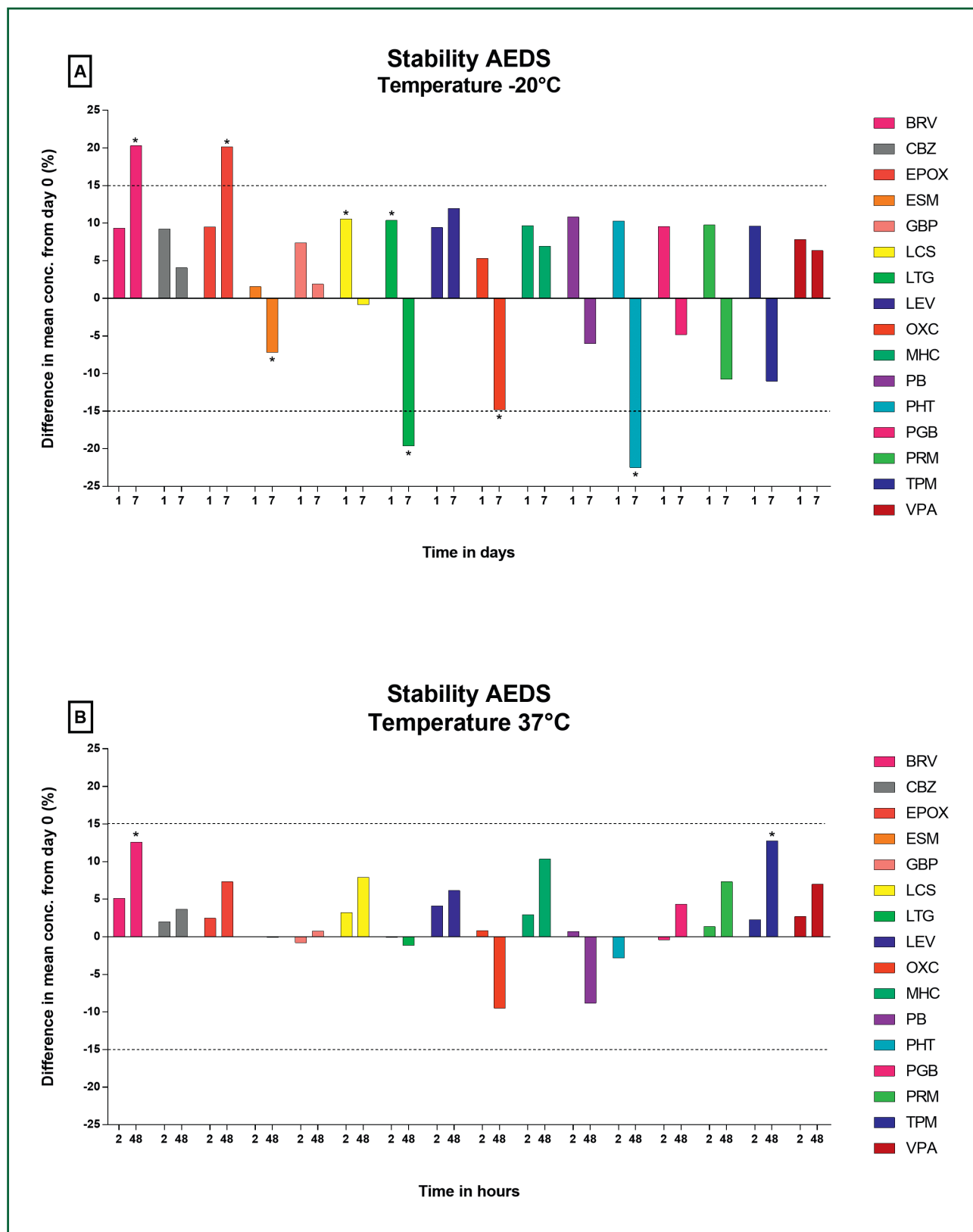
Aan 67 patiënten werd gevraagd deel te nemen aan deze studie, van wie twaalf patiënten weigerden. De belangrijkste reden om te weigeren was de angst om zichzelf te prikken. In totaal namen 55 patiënten van boven de achttien jaar deel aan de studie. De toepasbaarheid van VAMS voor patiënten en laboratorium is onderzocht door via VAMS verkregen bloedmonsters te controleren op afnametijd/-dag, post-dag en de totale analysetijd. Gedurende de studie waren tien patiënten zwanger, bij zwangere patiënten worden bloedspiegelbepalingen routinematig uitgevoerd. Hierdoor zijn er in totaal 75 VAMS-bepalingen uitgevoerd waarvan 30 afkomstig van



Figuur 2 Stabiliteit van de AEDs in de microsamplers: gemiddeld verschil in concentratie ($n=4$) vanaf dag 1, 2, 3 en 7 vergeleken met dag 0 (controle-dag) uitgedrukt in percentage. De stippellijn geeft de afwijkingsmarge van 15% weer. (*) staat voor monsters waarvan de concentraties buiten de $2 * SD$ -marge van de controle-dag vallen en daarom als significant veranderd worden beschouwd. BRV (brivaracetam), CBZ (carbamazepine), DHC (dihydroxy carbamazepine), EPOX (carbamazepine-10,11-epoxide), ESM (ethosuximide), GBP (gabapentine), LCS (lacosamide), LEV (levetiracetam), LTG (lamotrigine), MHC (10-monohydroxy carbamazepine), OXC (oxcarbazepine), PB (Fenobarbital), PGB (pregabaline), PHT (fenytoïne), TPM (topiramaat), VPA (valproïnezuur)

zwangere patiënten en 45 van niet-zwangere patiënten. 56/75 bepalingen zijn binnen één dag na afname geanalyseerd, 19/75 analyses zijn uitgevoerd binnen twee dagen na afname. Geen enkele analyse is later dan 48 uur na

afname uitgevoerd. De kwaliteit van bloedafname was hoog, slechts één patiënt heeft de bloedafname onvolledig uitgevoerd. In totaal vulden 47 patiënten de patiënttevredenheid-vragenlijsten in. 35/47 van de patiënten ervaarden



Figuur 3 Stabiliteits-AED's bij verschillende temperaturen: (A) gemiddeld verschil in concentratie (n = 4) van dag 1 en 7 van AED's opgeslagen bij -20°C vergeleken met dag 0 (controle-dag). (B) gemiddeld verschil in concentratie (n = 4) van 2 uur en 48 uur opgeslagen bij 37°C vergeleken met controledag. De stippellijn geeft de afwijkingmarge van 15% weer. (*) staat voor monsters waarvan de concentraties buiten de 2*SD-marge van de controle-dag vallen en daarom als significant veranderd worden beschouwd.

de VAMS-methode als patiëntvriendelijker dan de conventionele bloedafname, slechts 2/47 procent ervaarde de methode als onvriendelijk. De overige tien patiënten hadden geen voorkeur (6/47) of de vraag niet beantwoord (4/47). Daarbij gaven 40/47 patiënten aan ze VAMS aanbevelen aan medepatiënten en slechts 2/47 patiënten gaf de voorkeur aan de conventionele manier van bloed prikken.

Discussie en conclusie

De VAMS-methode is gevalideerd voor de meest routinematig gebruikte AEDs. Gedurende de evaluatie werden de Mitra-microsamplers bemonsterd op het laboratorium. Dit zorgt er echter voor dat het effect van de bloedafname via een vingerprik afwezig was. Desalniettemin illustreren de resultaten dat de VAMS-methode uitstekend gebruikt kan worden om de concentratie te bepalen van AEDs. De hoge correlaties tussen bloed/VAMS geeft weer dat er voldoende bloed uit de Mitra-microsamplers wordt geëxtraheerd en geanalyseerd en patiëntmonsters illustreren dat een hematocriet tussen 0.30-0.55 geen invloed heeft op de uitslag, een bevinding in lijn met eerder gepubliceerde data (Velghe & Stove, 2018). Daarnaast geeft de vergelijking tussen VAMS/conventioneel hoge correlaties en zijn de hellingen van Passing-Bablok regressielijn van de twee methodes dicht bij elkaar. Dit geeft aan dat de VAMS-methode vergelijkbare resultaten produceert als de conventionele. Het verschil dat wordt aangetroffen in de lineariteit is te wijten aan het verschil in de samenstelling van het monster; volbloed versus serum, deze resultaten zijn ook in lijn met eerder gepubliceerde data (Velghe & Stove, 2018, Linder et al, 2017). Aangezien de Mitra-microsamplers per post worden verzonden is het cruciaal om te weten of concentratie van de AEDs verandert wanneer de bemonsterde Mitra-microsamplers enige tijd bewaard worden, ook is het belangrijk om te analyseren of verschillende (buiten-)temperaturen invloed hebben op de concentratie van de AEDs. Resultaten illustreren dat deze bewaartijd een prominent effect heeft op de concentratiebepaling van een aantal AEDs, daarom is het voor de betrouwbaarheid van sommige AED-bepalingen cruciaal dat de tijd tussen afname van het bloed en de analyse zo klein mogelijk is. Alle bepaalde AED-concentraties waren tot en met dag 2 niet significant veranderd, behalve oxcarbazepine (OXC). OXC staat echter bekend om zijn onstabiele eigenschappen en daarom evalueren

de meeste klinici OXC in combinatie met het metaboliet MHC of alleen MHC. Resultaten toonden ook aan dat een temperatuur van 37°C geen significant effect toont binnen 48 uur vergeleken met de controledag. Deze bevindingen illustreren dat VAMS op klinisch gebied goed toepasbaar is, mits het afgenomen bloed binnen twee dagen geanalyseerd wordt.

De pilotstudie laat zien dat het Nederlandse postsysteem er gemakkelijk toe in staat is om samples binnen twee dagen bij een laboratorium te bezorgen. Voor landen waar dit niet het geval is wordt de toepasbaarheid van VAMS aanzienlijk verkleind. VAMS is een uitstekend hulpmiddel voor TDM van patiënten met epilepsie. De patiënttevredenheid is hoog en patiënten zijn goed in staat om VAMS thuis uit te voeren. Daarbij heeft VAMS vele voordelen zoals een klein bloedvolume, minimaal invasief, kan op een specifiek tijdstip thuis worden uitgevoerd - vooral gunstig voor patiënten die moeilijk hun arts kunnen bereiken. Deze pilotstudie vormt daarmee de basis voor uitgebreide TDM-studies met VAMS als hulpmiddel in de klinische praktijk in Nederland.

Referenties

- Canisius TPIJM, Soons JWP et al. (2020) Therapeutic drug monitoring of anti-epileptic drugs - a clinical verification of volumetric absorptive micro sampling. *Clin Chem Lab Med* 28;58(5):828-835
- Iapadre G, Balagura, G et al. (2018) Pharmacokinetics and Drug Interaction of Antiepileptic Drugs in Children and Adolescents. *Paediatr Drugs*. 20(5):429-453.
- Jacob S, Nair AB (2016) An Updated Overview on Therapeutic Drug Monitoring of Recent Antiepileptic Drugs. *Drugs R D*. 16:303-16.4
- Linder C, Wide K et al. (2017) Comparison between dried blood spot and plasma sampling for therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in children with epilepsy: A step towards home sampling. *Clin Biochem*. 50:418-24.
- Sourbron J, Chan H et al. (2018) Review on the relevance of therapeutic drug monitoring of levetiracetam. *Seizure*. 62:131-5.
- Velghe S, Stove CP (2018) Volumetric absorptive micro-sampling as an alternative tool for therapeutic drug monitoring of first-generation anti-epileptic drugs. *Anal Bioanal Chem*. 2018;410:2331-41.

Hebt u de website van het Epilepsiefonds al bekeken?
www.epilepsie.nl