

# MyCare™ Oncology Busulfan Assay

## Trousse de dosage oncologique du busulfan



Saladax Biomedical Inc.  
116 Research Dr.  
Bethlehem, PA 18015 USA



Service client  
Téléphone : +1 (610) 419-6731  
Fax : +1 (484) 547-0590  
Email : Techsupport@saladax.com  
MyCareTests.com

IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	LOT	Numéro de lot
	Consulter la notice d'utilisation		Fabricant
	Limite de température		Utiliser avant le
REF	Référence catalogue		Dépositaire agréé dans l'Union européenne
R1	Réactif 1	R2	Réactif 2
(N) x	Mélanger les réactifs (R1 et R2) par inversion douce N fois avant l'utilisation		Marquage CE

### Mode d'emploi

Le MyCare Oncology Busulfan Assay Kit est destiné à la mesure quantitative *in vitro* du busulfan dans le plasma hépariné humain à l'aide d'analyseurs de chimie clinique automatisés. Les mesures obtenues peuvent être utilisées pour faciliter la prise en charge des personnes pour lesquelles du busulfan a été prescrit par voie intraveineuse.

### Résumé et explication du test

Le busulfan (1,4-butanediol diméthanésulfonate ; Busulfex®) est un agent alkylant bifonctionnel indiqué en association avec le cyclophosphamide (CY) comme traitement de conditionnement avant une greffe allogénique de cellules progénitrices hématopoïétiques (HPCT) pour la leucémie myéloïde chronique (LMC).<sup>1</sup> Le busulfan est également utilisé pour la myéloablation avant la greffe de cellules souches hématopoïétiques pour d'autres maladies malignes telles que la leucémie myéloïde aiguë, les syndromes myélodysplasiques, la leucémie lymphoïde aiguë et des maladies non malignes telles que les syndromes métaboliques, l'hémoglobinoopathie et l'immunodéficience, entre autres.<sup>2</sup>

Dans le cas de la myéloablation avant une greffe, le busulfan est souvent administré en perfusion de deux heures toutes les six heures pendant quatre jours, soit 16 doses au total. Le suivi thérapeutique des médicaments pour l'ajustement de la dose de busulfan est recommandé dans la notice de Busulfex lors du premier cycle de traitement.<sup>1</sup> La cible thérapeutique est l'aire sous la courbe (AUC) de 56 - 86 mgxh/L (900-1 350 µM min) pour les patients pédiatriques.<sup>1</sup> Pour calculer l'AUC, des échantillons sanguins sont prélevés à la fin de la perfusion, quatre heures après le début de la perfusion et avant la dose suivante (creux). Le suivi thérapeutique du busulfan doit être envisagé pour minimiser le syndrome d'obstruction sinusoidale, réduire les taux de rejet du greffon et les taux de rechute.<sup>3</sup>

Le MyCare Oncology Busulfan Assay Kit (brevet É.-U. N° 7,893,220) est un dosage immunologique homogène à deux réactifs par agglutination de nanoparticules utilisé pour la détection du busulfan dans le plasma humain. Il repose sur le principe de la mesure des changements de la lumière diffusée ou de l'absorbance qui résultent de l'agrégation des nanoparticules. Cette agrégation est mesurée à des longueurs d'onde comprises entre 400 et 650 nm à l'aide d'analyseurs de chimie clinique automatisés. Les conjugués médicamenteux polyvalents servent de partenaire de liaison aux anticorps sélectifs du busulfan qui sont liés de manière covalente à la surface des nanoparticules. En l'absence de busulfan libre, cette réaction crée des agrégats volumineux, produisant une solution qui diffuse la lumière incidente et entraîne une augmentation de l'absorption observée de la solution. Quand un échantillon contenant du busulfan est introduit, la réaction d'agglutination est partiellement inhibée. L'anticorps lié au médicament dans l'échantillon n'est plus disponible pour favoriser l'agrégation des nanoparticules, ce qui réduit la diffusion de la lumière incidente et l'absorption observée de la solution. On obtient ainsi une courbe d'inhibition classique en fonction de la

concentration de busulfan, l'absorption maximale se produisant avec de faibles niveaux de médicament et l'absorption minimale se produisant avec des niveaux élevés de médicament. L'observation des variations de la lumière diffusée ou de l'absorbance en fonction de la concentration du médicament permet d'obtenir une courbe dépendant de la concentration.<sup>4-5</sup>

## Réactifs

La trousse contient suffisamment de réactifs pour 100 tests\*

MyCare Oncology Busulfan Assay Kit <b>RÉF</b> BSF-RGT	Quantité x Volume
Réactif 1 <b>R1</b> Tampon de réaction contenant conjugué de médicament et protéine dans une solution tampon	1 x 9,5 ml
Réactif 2 <b>R2</b> Réactif de nanoparticules contenant un anticorps monoclonal lié à des nanoparticules dans une solution tampon	1 x 9,5 ml

\*En fonction de l'analyseur

## Avertissements et précautions

- Pour utilisation diagnostic in vitro uniquement.
- Prendre les précautions normales requises lors de la manipulation de tous les réactifs de laboratoire.
- Suivre les instructions de manipulation des réactifs. Un mauvais mélange des réactifs peut affecter les performances du dosage.
- Les matériaux d'origine humaine ont été testés pour le VIH1, le VIH2, l'hépatite B et l'hépatite C à l'aide de méthodes approuvées par la FDA et les résultats se sont révélés négatifs. Cependant, aucune méthode de test ne pouvant exclure avec une certitude absolue le risque potentiel d'infection, le matériel doit être manipulé avec autant de précautions qu'un échantillon de patient. En cas d'exposition, il convient de suivre les directives des autorités sanitaires compétentes.
- Tous les composants du dosage du busulfan contiennent moins de 0,1 % d'azide de sodium. Éviter le contact avec la peau et les muqueuses. Rincer les zones affectées avec de grandes quantités d'eau. Consulter immédiatement un médecin en cas d'ingestion d'un réactif ou de contact d'un réactif avec les yeux. Lors de l'élimination de ces réactifs, toujours rincer avec de grandes quantités d'eau pour éviter l'accumulation d'azide.

## Manipulation des réactifs

Les réactifs du dosage du busulfan sont prêts à l'emploi.

Avant usage, mélanger les réactifs en retournant doucement trois à cinq fois, en évitant la formation de bulles.

Mélanger les réactifs avant de les verser dans les porte-réactifs spécifiques à l'analyseur (secondaires). Avant de placer les porte-réactifs spécifiques à l'analyseur (secondaires) sur l'analyseur, mélanger les réactifs par inversion douce cinq fois et en évitant la formation de bulles.

## Stockage et stabilité

Conserver les réactifs au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler.

Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption de l'étiquette à condition d'être conservés et manipulés comme indiqué. Un stockage inadéquat des réactifs peut affecter les performances du dosage.

## Prélèvement et manipulation des échantillons

Du plasma hépariné au sodium est nécessaire.

Prélever des échantillons directement après la fin de la perfusion, 4 heures après le début de la perfusion et directement avant la perfusion suivante.

Le busulfan est instable. Conserver les échantillons de sang total dans une bouillie de glace humide ou au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8 °C. Centrifuger le sang total et prélever le plasma au cours des deux heures suivant le prélèvement. Le plasma peut être conservé au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant les 24 heures précédant l'analyse.

Pour une conservation plus longue du plasma, congeler l'échantillon à -80 °C jusqu'à 12 mois et à -20 °C jusqu'à 3 mois. Ne pas congeler les échantillons de sang total.

S'assurer que l'échantillon de plasma est décongelé et bien mélangé avant de procéder au dosage.

## Procédure

### Dosage

Pour effectuer le dosage, se reporter à la fiche d'application spécifique à l'instrument et au manuel de l'opérateur de l'analyseur approprié.

### Instruments

Il peut être nécessaire de transférer les réactifs dans des conteneurs de réactifs spécifiques à l'analyseur (voir Manipulation des réactifs).

### Matériel fourni :

**REF** BSF-RGT – MyCare Oncology Busulfan Assay Kit

### Matériel nécessaire – fourni séparément

**REF** BSF-CAL – MyCare Oncology Busulfan Calibrator Kit

**REF** BSF-CON – MyCare Oncology Busulfan Control Kit

### Procédure de dilution des échantillons

Les échantillons contenant plus de 2 000 ng/ml de busulfan peuvent être dilués automatiquement ou manuellement à raison de 1:2 (1 volume d'échantillon plus 2 volumes d'eau) pour obtenir une plage supérieure de 6 000 ng/ml.

### Étalonnage

Pour effectuer un étalonnage, voir la fiche d'application spécifique de l'instrument et le manuel de l'opérateur de l'analyseur approprié.

Effectuer un étalonnage complet à l'aide des six étalons du Busulfan Calibrator Kit. Vérifier l'étalonnage en testant les contrôles bas, moyen et haut du Busulfan Control Kit.

### Fréquence d'étalonnage

Il est recommandé de procéder à un étalonnage :

- Après un changement de lot de trousse de réactifs,
- Après l'exécution de la maintenance mensuelle de l'instrument,
- Selon les besoins, conformément aux procédures de contrôle de la qualité.

### Contrôle qualité

Chaque laboratoire doit établir ses propres procédures de contrôle de qualité pour le dosage du busulfan. Toutes les exigences en matière de contrôle de la qualité et tous les essais doivent être effectués conformément aux réglementations locales, nationales et/ou fédérales ou aux exigences en matière d'accréditation. Les bonnes pratiques de laboratoire suggèrent qu'au moins deux concentrations de contrôle de qualité soient testées chaque jour où des échantillons de patients sont analysés, et chaque fois qu'un étalonnage est effectué. Réévaluer les cibles et les plages de contrôle après un changement de réactif (trousse) ou de contrôle.

## Résultats

Les résultats du MyCare Oncology Busulfan Assay Kit sont utilisés pour calculer une AUC ou une C<sub>ss</sub> (concentration à l'état d'équilibre).

$$C_{ss} = \frac{AUC}{\text{Fréquence des dosages}}$$

Les résultats sont exprimés en ng/ml. Le facteur de conversion de µM est de 0,0041 x ng/ml = 1 µmol/l.

### Limites de la procédure

Comme pour toutes les déterminations d'analytes, le MyCare Oncology Busulfan Assay Kit doit être utilisé en conjonction avec les informations disponibles à partir de l'évaluation clinique et d'autres procédures de diagnostic.

Le dosage du busulfan a été validé pour le plasma d'héparine sodique. Ne pas utiliser de tubes séparateurs de plasma.

Ne pas utiliser d'échantillons de contrôle de compétence ou de contrôle de qualité externe contenant des solvants organiques.

Comme pour tout dosage utilisant des anticorps de souris, il existe une possibilité d'interférence par des anticorps humains anti-souris (HAMA) dans l'échantillon. Les échantillons contenant de tels anticorps peuvent potentiellement produire des résultats erronés concernant le busulfan, qui ne correspondent pas au profil clinique du patient.

Le citalopram à des concentrations de 5 500, 3 700 et 1 900 ng/ml testé avec 325 ng/ml de busulfan a augmenté le résultat du busulfan de 48 %, 29 % et 17 % respectivement. Des concentrations thérapeutiques élevées de citalopram peuvent fausser les résultats.

## Valeurs attendues

Le TDM du busulfan est utilisé pour personnaliser la dose en fonction d'une exposition cible comme l'aire sous la courbe de la concentration plasmatique en fonction du temps (AUC) ou la concentration à l'état d'équilibre. Les concentrations de busulfan sont utilisées pour calculer l'exposition au busulfan sous forme d'AUC.<sup>3</sup> Les concentrations de busulfan ne doivent pas être le seul moyen de gestion thérapeutique des médicaments. Le test doit être utilisé en conjonction avec les informations disponibles à partir d'évaluations cliniques et d'autres procédures de diagnostic.

L'AUC peut être calculée à l'aide de diverses méthodes, telles que l'analyse non compartimentale utilisant la règle du trapèze et la modélisation pharmacocinétique (PK).<sup>2</sup>

## Données de performance spécifiques

Les données de performance typiques du dosage du busulfan sont présentées ci-dessous. Les résultats obtenus dans les laboratoires individuels peuvent différer de ces données.

### Précision

La précision et la répétabilité au sein du laboratoire ont été vérifiées sur toute la plage de mesure conformément à la directive EP05-A3 du CLSI.<sup>6</sup> Trois contrôles du Busulfan Control Kit et quatre pools de plasma humain normal dopés au busulfan (dopages 1, 2, 3, 4) ont été testés. Les échantillons ont été analysés deux fois par jour pendant vingt jours en utilisant trois lots de réactifs et deux analyseurs.

Les données suivantes sont représentatives d'un lot de réactifs testés sur un analyseur.

Type d'échantillon		Valeur assignée (ng/ml)	N	Valeur moyenne observée (ng/ml)	Répétabilité	Au sein du laboratoire
					%CV	%CV
Contrôles	Faible	225	80	250	4,6 %	6,1 %
	Moyen	450	80	461	3,1 %	3,9 %
	Haut	900	80	910	1,8 %	2,8 %
Plasma	Dopage 1	325	80	328	4,7 %	5,7 %
	Dopage 2	600	80	615	4,0 %	4,8 %
	Dopage 3	1 100	80	1 124	2,1 %	2,9 %
	Dopage 4	1 500	80	1 531	2,6 %	3,1 %

### Limite de quantification (LoQ) et limite de détection (LoD)

Les limites inférieures de quantification et de détection ont été établies en se basant sur la ligne directrice EP17-A2 du CLSI.<sup>7</sup>

#### LoQ

Le seuil de quantification a été déterminé avec un objectif d'exactitude au seuil de quantification  $\leq$  erreur totale de 35 % (modèle de Westgard). La limite de quantification du dosage du busulfan est de 187 ng/ml.

#### Seuil de détection

La LoD est la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée de manière fiable ( $\geq$  95 % des résultats supérieurs à la limite du blanc). La LoD du dosage du busulfan est de 96 ng/ml.

### Plage de mesure

La plage de mesure du dosage du busulfan est comprise entre 187 et 2 000 ng/ml.

### Spécificité

#### Métabolisme

Le busulfan est principalement métabolisé par conjugaison avec le glutathion, à la fois spontanément et par catalyse de la glutathion S-transférase (GST). Ce conjugué subit un métabolisme oxydatif important dans le foie.<sup>1</sup> Les métabolites signalés dans le plasma et l'urine comprennent le tétrahydrothiophène (THT), le THT-1-oxyde, le sulfolane et le 3-hydroxy-sulfolane.<sup>8,9</sup>

La spécificité des métabolites et des réactifs croisés suivants a été testée en l'absence et en présence de 325 et 1 500 ng/ml de busulfan.

Composé	Testé à (ng/ml)	% de biais
THT	100	2 %
THT-1-oxyde	500	3 %
Sulfolane	800	3 %
3-hydroxysulfolane	500	3 %

Aucun biais significatif n'a été observé dans les échantillons contenant les interférents endogènes suivants aux niveaux indiqués.

Interférent	Niveau	
Facteur rhumatoïde	508 UI/ml	
Sérum albumine humaine	10,7 g/dl	107 g/l
Immunoglobuline G humaine	11,7 g/dl	117 g/l
Anticorps humains anti-souris	100 ng/ml	
Interférence ictérique	44 mg/dl	752 µmol/l
Interférence lipémique	711 mg/dl	8 mmol/l
Hémolysat	1 025 mg/dl	
Acide urique	1,5 mg/dl	89 mmol/l

#### Réactivité croisée

Les composés suivants n'ont pas interféré avec le dosage du busulfan : le biais du dosage était < 23 %.

Composé	Testé à (ng/ml)	Composé	Testé à (ng/ml)
Acétaminophène	200 000	Acide acétylsalicylique	500 000
Acyclovir	66 000	Albutérol	1 000
Alendronate sodique	1 000	Allopurinol	60 000
Alpha - tocophérol	129 300	Alprazolam	2 000
Amantadine	10 000	Sulfate d'amikacine	144 000
Amisulpride	1 200	Amitriptyline	1 000
Bésylate d'amlodipine	100	Amoxicilline	80 000
S (+)-amphétamine	1 000	Azathioprine	2 600
Baclofène	3 000	Benztrapine	600
Biotine	3 600	Bupropion	3 000
Buspirone	20	Caféine	108 000
Carbonate de calcium	315 000	Carbamazépine	45 000
Céfalexine	200 000	Ceftriaxone	84 000
Celecoxib	10 000	Chlorhydrate de cétirizine	4 400
Chlordiazépoxyde	6 900	8-chlorothéophylline	3 000
Chlorpromazine HCl	3 300	Cimétidine	30 000
Ciprofloxacine	12 000	Clindamycine	51 000
Clofarabine	13 200	Clonazepam	300
Clotrimazole	2 400	Codéine	2 000
Cortisol	300	(-)-cotinine	2 000
Cyclophosphamide	549 000	Cyclosporine	1 800
Déférasirox	75 000	Desloratadine	600
Dextrométhorphan	1 000	Diazépam	30 000
Diphenhydramine HCl	6 000	Ester éthylique de l'acide docosahexaénoïque	150 000
Doxycycline HCl	35 000	Duloxétine	200

Composé	Testé à (ng/ml)	Composé	Testé à (ng/ml)
Erythromycine	138 000	Estradiol	1,2
Éthanol	6 000 000	Etoposide	42 000
Fentanyl	600	Fluconazole	25 500
Fludarabine	5 200	Fluoxétine HCl	1 000
Flurazépam	500	Propionate de fluticasone	10
Acide folique	15	Gemcitabine	16 000
Sulfate de gentamycine	30 000	Ibuprofène	500 000
Sulfate d'indinavir	400	Itraconazole	6 000
Kanamycine	90 000	Lamivudine	10 500
Acide L-ascorbique	60 000	Levetiracetam	180 000
Lidocaïne	15 000	Lorazepam	1 000
Méclizine	500	Melphalan	4 500
Méthotrexate	1 360 000	Méthylprednisolone	7 900
Métronidazole	123 000	Morphine	7 800
Naproxen sodique	500 000	Nicotine	1 000
Acide nicotinique	54 000	Nordiazépam	5 000
Oméprazole	8 400	Ondansétron	350
Oxazépam	5 000	Oxycodone	500
Acide pantothénique	1 800	Pénicilline G	30 000
Pénicilline V	42 000	Phénobarbital	690 000
Phénytoïne	60 000	Posaconazole	2 100
EDTA de potassium	1 000	Prednisolone	3 000
Prégabaline	22 500	Procaïnamide	48 000
Prochlorpérazine	3 500	Prométhazine	1 200
R,R (-)-pseudoéphédrine	10 000	S,S (+)-pseudoéphédrine	10 000

Composé	Testé à (ng/ml)	Composé	Testé à (ng/ml)
Chlorhydrate de pyridoxine	100	Quinidine	15 000
Ranitidine	10 500	Rétinol	4 000
Riboflavine	200	Rifampicine	48 000
Acide salicylique	500 000	Fluorure de sodium	900
Héparine de sodium	50 U/ml	Sulfate de streptomycine	258 000
Sulfaméthoxazole	400 000	Témazépam	5 000
Thiamine HCl	500	Thiotépa	30 000
Tobramycine	33 000	Topiramate	30 000

Composé	Testé à (ng/ml)	Composé	Testé à (ng/ml)
Trazodone HCl	10 000	Triazolam	40
Triméthoprime	42 000	Acide valproïque	500 000
Vancomycine	120 000	Vitamine B12	1
Vitamine D2	1 200	Vitamine K1	10
Voriconazole	18 000	Vorinostat	2 800
Warfarine	75 000	Hémitartrate de zolpidem	5 000
Zonisamide	120 000	Zopiclone	400

### Récupération

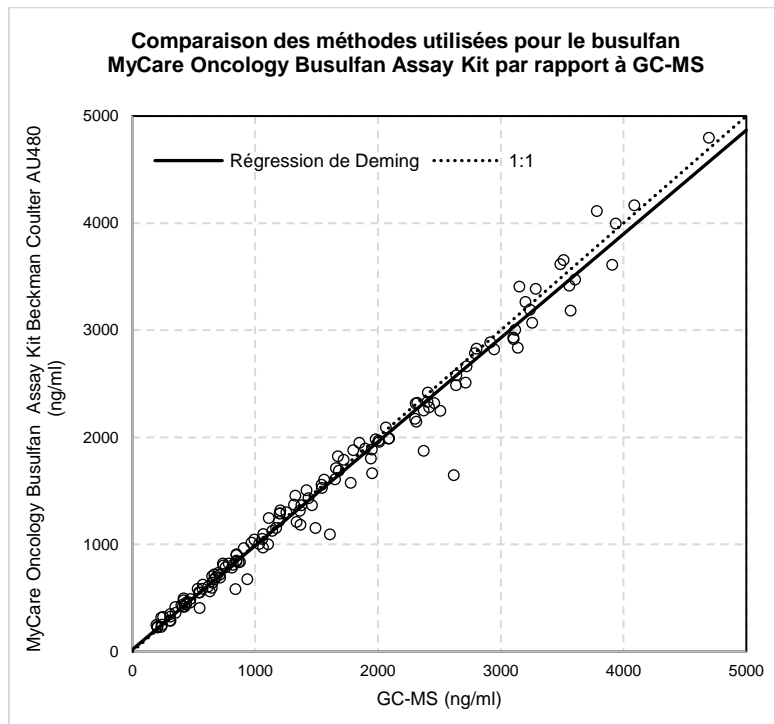
La récupération du busulfan a été évaluée chez les 3 témoins et les pools cliniques ont été mesurés pour l'étude de performance de précision EP05-A3. Le pourcentage de récupération a été déterminé en divisant la concentration moyenne mesurée de chaque échantillon par la concentration attendue de busulfan. L'écart moyen de récupération était compris entre -1 % et 4 %.

### Linéarité

La linéarité du dosage du busulfan a été vérifiée conformément à la ligne directrice EP6-A du CLSI.<sup>6</sup> Onze échantillons de linéarité couvrant la plage de mesures ont été préparés dans du plasma humain dopé au busulfan. La régression linéaire a donné une pente de 1,000 (IC 95 % : 0,988 - 1,013) et un point d'intersection de 29 (IC 95 % : 14 - 45) avec un R = 0,999. L'écart par rapport à la linéarité (n = 5) était de -12 %. Le dosage était linéaire sur toute la plage de mesure de 187 à 2 000 ng/ml.

### Comparaison des méthodes

Les résultats du dosage du busulfan ont été comparés à ceux d'un GC-MS validé, en utilisant des échantillons de patient prenant du busulfan conformément à la directive EP09c du CLSI.<sup>10</sup> Une analyse de régression de Deming a été réalisée avec 208 échantillons de patients prenant du busulfan. Les résultats sont présentés pour un lot.



Statistiques de régression Busulfan Assay Kit par rapport à GC-MS	
Pente	0,97
Point d'interception	18
Coefficient de corrélation (R)	0,9917
N	208
Gamme de concentration (GC-MS)	171 - 4 696

### **Références de la notice d'emballage :**

1. Otsuka America Pharmaceutical I. Busulfex Package Insert.
2. Bartelink IH, Lalmohamed A, van Reij EML, et al. Association of busulfan exposure with survival and toxicity after haemopoietic cell transplantation in children and young adults: a multicentre, retrospective cohort analysis. *Lancet Haematol.* 2016;3(11):e526-e536.
3. Palmer J, McCune JS, Perales MA, et al. Personalizing Busulfan-Based Conditioning: Considerations from the American Society for Blood and Marrow Transplantation Practice Guidelines Committee. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016;22(11):1915-1925.
4. McNally AJ, Goc-Szkutnicka K, Li Z, Pilcher I, Polakowski S, Salamone SJ. An online immunoassay for LSD: comparison with GC-MS and the Abuscreen RIA. *Journal of analytical toxicology.* 1996;20(6):404-408.
5. Li Z, Goc-Szkutnicka K, McNally AJ, et al. New synthesis and characterization of (+)-lysergic acid diethylamide (LSD) derivatives and the development of a microparticle-based immunoassay for the detection of LSD and its metabolites. *Bioconjugate chemistry.* 1997;8(6):896-905.
6. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition. CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2014.
7. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
8. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 11th ed: Biomedical Publications; 2017.
9. Myers AL, Kawedia JD, Champlin RE, et al. Clarifying busulfan metabolism and drug interactions to support new therapeutic drug monitoring strategies: a comprehensive review. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2017;13(9):901-923.
10. CLSI. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. 3<sup>rd</sup> ed. CLSI guideline EP09c. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2018.

© 2023, Saladax Biomedical, Inc.

MyCare™ est une marque déposée de Saladax Biomedical, Inc. Tous les autres noms de produits et marques sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.