



Paclitaxel (MyPaclitaxel™) Assay

This package insert must be read carefully prior to product use. Package insert instructions must be followed accordingly. Reliability of assay results cannot be guaranteed if there are any deviations from the instructions in this package insert.

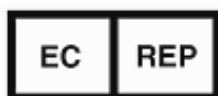
Customer Service:

Telephone: +1-610-419-6731

Fax: +1-484-547-0590

Key to Symbols Used

	<i>in vitro</i> Diagnostic Device		Consult Instructions for Use
	Batch Code (Lot)		Temperature Limitation
	Catalog Number		Use By
	Caution: Consult accompanying documents		Authorized Representative in the European Community
	Reagent 1		Manufacturer
	Reagent 2		Calibrator A



EMERGO EUROPE
 Prinsessegracht 20
 2514 AP The Hague
 The Netherlands



Saladax Biomedical, Inc.
 116 Research Drive
 Bethlehem, PA 18015 USA
www.saladax.com



Intended Use

The Saladax Paclitaxel (MyPaclitaxel) Assay is an *in vitro* diagnostic medical device intended for the quantitative determination of paclitaxel in human plasma using automated clinical chemistry analyzers as an aid in the management of paclitaxel therapy.

Summary and Explanation of the Test

Paclitaxel (Taxol®, Abraxane®) is a commonly used antineoplastic agent of the taxoid family with broad activity in patients with a variety of solid tumors such as ovarian cancer, breast cancer, non-small cell lung cancer (NSCLC), and AIDS-related Kaposi's Sarcoma^{1, 2}. Paclitaxel is not only used for advanced disease, but also in the adjuvant treatment of breast cancer³, and in early ovarian cancer⁴. As with most cytotoxic agents, paclitaxel has a narrow therapeutic window and inter-individual variability of pharmacokinetics (PK) is a major contributor to unpredictable toxicity.

Paclitaxel is typically administered at 135 - 175 mg/m² IV over 3 hours, every 3 weeks². However, this body surface area (BSA)-based dosing is associated with paclitaxel systemic exposure variability as high as 10-fold⁵⁻⁹. Genetic polymorphisms⁹⁻¹² and several other covariates (sex, BSA, and age)^{13, 14} have been shown to affect the elimination capacity of paclitaxel. Inter-patient variability in exposure could be reduced by using individual patient PK data to guide dosing. Several such studies using dose adjustment have been performed. The first one enrolled children with refractory acute leukemia¹⁵. Twelve hours into a 24-hour infusion, one arm had doses adjusted to achieve the target AUC of 2.9 mg•h/L. With adjustment, the resultant AUCs were between 75% and 125% of the target, whereas none of the unadjusted arm was in the target range ($p=0.021$). In another study, dose adjustments of paclitaxel were performed after first cycle administration of paclitaxel (175 mg/m² over 3 hours) for patients with advanced NSCLC to maintain a paclitaxel plasma concentration of 0.10 µmol/L for more than 15 hours¹⁶. Patients requiring adjustment to reach the target exposure duration decreased from 36% to 11% over 6 courses. The recently completed Central European Society for Anticancer Research (CESAR) Study of Paclitaxel Therapeutic Drug Monitoring (CEPAC-TDM) randomized 304 patients with advanced NSCLC receiving paclitaxel/carboplatin to either a standard dose (Arm A) or at a PK-guided dose (Arm B) for which subsequent PTX doses were adjusted to a $T_{C>0.05}$ of 26 - 31 hours based on the $T_{C>0.05}$ in the previous cycle. The proportion of patients with supratherapeutic PTX exposure was reduced from

41% in cycle 1 to 2% in cycle 6¹⁷. These studies demonstrate that paclitaxel therapeutic dose management (TDM) with individual dose adjustments is feasible, and may provide improved outcomes for patients undergoing chemotherapy with paclitaxel.

There is increasing evidence for the relationship between paclitaxel plasma concentrations and drug-associated toxicity and clinical outcome^{14, 17-20}. The major toxicity observed during paclitaxel treatment is bone marrow suppression (neutropenia, anemia, thrombocytopenia), followed by cumulative dose phenomenon such as neurotoxicity, with frequent peripheral neuropathy.

The PK parameter which has emerged as the most relevant predictor of hematological toxicity, neuropathy and also clinical outcome in some studies, is the time above a paclitaxel plasma concentration of 0.05 $\mu\text{mol/L}$ (less frequently 0.10 $\mu\text{mol/L}$ ¹⁸), or $T_{>0.05}$. The most frequent adverse effect was neutropenia^{7, 9, 12, 14, 19, 21, 22}. A large data-set from a multi-center pharmacology trial in 135 patients with ovarian cancer receiving paclitaxel/carboplatin treatment was published by Joerger *et al.* in 2007¹⁴. Paclitaxel $T_{>0.05}$ was significantly higher in patients with severe as compared to no or mild neutropenia. A paclitaxel $T_{>0.05}$ of between 24 and 30 hours was the best discriminator between mild and severe neutropenia. With respect to neuropathy, Mielke *et al.* showed a significant risk of peripheral neuropathy with paclitaxel $T_{>0.05} > 10.6$ hours ($p=0.023$)²³. In the larger randomized CEPAC-TDM study mentioned above PK-guided dosing resulted in a clinically relevant reduction of neuropathy compared to standard dosing (grade ≥ 2 neuropathy 14% vs. 27%, $p < 0.001$). Lower average PTX doses (132 vs. 197 mg/m^2 , $p < 0.001$) had no negative effect on clinical outcome in the overall study population - Arms A and B: objective response rate of 32% vs. 29% ($p=0.70$) and progression-free survival of 5.2 vs. 4.7 months (hazard ratio 1.1, 95% CI 0.8-1.4, $p=0.54$)¹⁷.

Paclitaxel time above threshold concentration was also related to clinical outcome, although to a lesser extent. Huizing *et al.* evaluated patients with advanced NSCLC, and noted different threshold values correlated with different outcomes. Those patients with longer paclitaxel $T_{>0.10}$ had a longer median survival as compared to patients with a shorter paclitaxel $T_{>0.10}$ (8.2 vs. 4.8 months, $p=0.06$), and paclitaxel $T_{>0.05}$ was correlated to a significantly improved time to disease progression (TTP) (82.0 vs 62.2 weeks, $p=0.05$)¹⁸. Similarly, Joerger *et al.* showed that in ovarian cancer patients receiving 3-weekly paclitaxel/carboplatin treatments, $T_{>0.05}$ correlated to improved TTP (85.2 versus 63.3 weeks; $p=0.05$)¹⁴.

The goals of paclitaxel TDM are to identify those patients that are at risk for toxicity. This information can be used 1) to make a decision whether to prophylactically administer granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) to prevent neutropenia and/or 2) to *guide* dose administration to an effective exposure, while remaining below plasma concentrations that give rise to toxicity.

Currently PK-guided TDM for paclitaxel is not a clinical reality in part due to the lack of rapid and cost-effective methods to monitor cancer drug plasma concentrations. Monitoring *is possible* by chromatographic methods such as liquid chromatography mass spectroscopy (LC-MS), but the cost per test for these methodologies is high and requires extensive sample pretreatment. The sample pretreatment steps (extraction into organic solvent, drying, and resuspension into aqueous solvent), can introduce significant error in the final measurement. By comparison, the MyPaclitaxel Assay provides a convenient, cost-effective, and timely tool to aid oncologists in paclitaxel dose management.

Principles of the Procedure

The MyPaclitaxel Assay (US Patent No. 7,175,993) is a homogeneous two-reagent nanoparticle agglutination immunoassay used to measure the concentration of paclitaxel in human plasma. It is based upon the principle of measuring changes in scattered light, or apparent absorbance, which result when antibody coated nanoparticles aggregate. This agglutination is measured at wavelengths between 400 and 650 nm using automated clinical analyzers. In this technology, multivalent drug-conjugates serve as binding partners to antibodies selective for paclitaxel, which are covalently attached to the surface of nanoparticles. In the absence of free paclitaxel, this reaction creates large aggregates, resulting in a solution that scatters incident light and leads to an increase in the observed absorption of the solution. When a sample containing paclitaxel is introduced, the agglutination reaction is partially inhibited. Antibody bound to drug in the sample is no longer available to promote nanoparticle aggregation, resulting in less scattering of incident light and lower observed absorption of the solution. This results in an inhibition curve with increasing paclitaxel: no drug in the sample results in maximum absorbance and high drug levels in the sample result in a minimal amount of absorbance. Monitoring the changes in scattered light or absorbance as a function of drug levels results in a concentration-dependent curve^{24, 25}.

Reagents

MyPaclitaxel Assay (REF PTX-RGT) includes:

1. **Reaction Buffer** (R1): contains agglutination enhancers, protein, and buffer.
2. **Nanoparticle Reagent** (R2): contains monoclonal antibody bound to nanoparticles in a buffered solution.

Additional Materials Required But Not Provided:

(REF) PTX-CAL – MyPaclitaxel Calibrator Kit

(REF) PTX-CON – MyPaclitaxel Control Kit

(REF) PTX-CON-C111 – MyPaclitaxel Control Kit for cobas® c111

Materials Provided But Not Required:

(REF) GEN-DEC – MyCare Drug Exposure Calculator

Precautions and Warnings

For In Vitro Diagnostic Use Only.

Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

All components of the MyPaclitaxel Assay contain less than 0.1% sodium azide. For the specific listing, refer to the reagent section of this package insert. Avoid contact with skin and mucous membranes. Flush affected areas with copious amounts of water. Seek immediate medical attention if reagents are ingested or come into contact with eyes. When disposing of such reagents, always flush with large amounts of water to prevent accumulation of azide.

Handling and Storage Instructions

Store reagents, calibrators and controls refrigerated at 2-8°C (35-46°F). Do not freeze.

Before use, mix the Nanoparticle Reagent (R2) by gently inverting the R2 reagent vial three to five times, avoiding the formation of bubbles.

Indications of Stability

Reagents are stable until the expiration date when stored and handled as directed.

Sample Collection and Handling

Plasma (EDTA) specimens may be used with the MyPaclitaxel Assay. Collect a minimum of 2 mL of blood into an EDTA tube. Collect the blood sample by venipuncture or through a peripheral IV line. Draw the sample **24 ± 6 (18-30) hours after the start of infusion**. The start time of the infusion and actual sampling times should be recorded.

Collected samples should be placed on ice immediately and be processed to plasma within 12 hours of collection. Draw off plasma from the top of the tube, avoiding the cell layer (contamination of plasma with blood cells may interfere with results), and transfer to a capped secondary tube. Store the samples at 2-8°C for immediate testing (within 7 days) or freeze ($\leq -20^{\circ}\text{C}$) if storing for a longer period. If the samples will be shipped to an outside testing laboratory, they may be stored at 2-8°C or frozen and shipped on ice packs for delivery within 7 days.

Assay Procedure

Refer to the instrument specific Application Sheet for instructions and parameters before performing the assay.

Specimen Dilution Procedure

Samples containing paclitaxel concentrations greater than 320 ng/mL can be diluted 1:2 for a reportable assay range up to 960 ng/mL. Specimens out of range can be manually diluted 1:2 with paclitaxel Calibrator A (CALA ; one part specimen and two parts Calibrator A) prior to re-testing.

Calibration

The MyPaclitaxel Assay produces a calibration curve with a 0 to 320 ng/mL range using the MyPaclitaxel Calibrator Kit. The minimum detectable concentration of paclitaxel in plasma for the MyPaclitaxel Assay is 17 ng/mL.

Verify the assay calibration by testing MyPaclitaxel Controls.

Calibration Frequency

Calibration is recommended:

- After a lot change of calibrator or reagent (kit),
- After performing major instrument maintenance or repairs,
- As required by each laboratory's quality control procedures.

Quality Control

The MyPaclitaxel Control Kit contains three levels of controls with low, medium and high paclitaxel concentrations.

Each laboratory should establish its own control ranges and frequency of quality control. Good laboratory practice suggests that at least two control levels be tested each day patient samples are assayed and each time a calibration is performed. Reassess control targets and ranges following a lot change of reagent (kit), calibrator, or control.

Results and Expected Values

The analyzer software calculates a best fit non-linear curve equation that is used to generate a calibration curve that ranges from 0 to 320 ng/mL paclitaxel. Concentrations of drug in unknown samples are calculated from this calibration curve using absorbance values generated for each sample.

Limitations of the Procedure

As with all analyte determinations, the MyPaclitaxel Assay should be used in conjunction with information available from clinical evaluation and other diagnostic procedures.

Performance characteristics for the MyPaclitaxel Assay have not been established for body fluids other than human plasma containing EDTA.

No significant interferences were observed from samples with the following conditions:

	Level	
Rheumatoid Factor	500 IU/mL	
Total Protein Matrix Effect	15.0 g/dL	150 g/L
Icteric Interference	96 mg/dL	1,642 μ mol/L
Lipemic Interference	603 mg/dL	6.6 mmol/L
Hemolysate	1,000 mg/dL	

Paclitaxel is not stable in whole blood. Hemolysis should be avoided.

Paclitaxel metabolites 6 α -hydroxy-paclitaxel and 3'*p*-hydroxy-paclitaxel have 3.4% and 3.0% cross-reactivity, respectively, in the MyPaclitaxel Assay. These metabolites are rapidly broken down further in the liver, and will not accrue to detectable quantities in the blood at the recommended sampling timepoint. Maximum metabolite concentrations in human blood are < 10% of the total paclitaxel for 6 α -hydroxy-paclitaxel and < 5% for 3'*p*-hydroxy-paclitaxel, which would contribute < 0.34% and < 0.15% positive bias, respectively.

Paclitaxel will epimerize under alkaline conditions to 7-*epi*-paclitaxel. Patient plasma samples do not contain the epimer upon collection, but prolonged storage at 2-8°C (> 7 days) or room temperature (> 6 hours) will result in epimer formation. Proper handling of patient samples is essential to avoid biased results.

As with any assay using mouse antibodies, the possibility exists for interference by human anti-mouse antibodies (HAMA) in the sample. Samples containing such antibodies can potentially produce erroneous results, which are inconsistent with the patient's clinical profile. If HAMA interference is suspected, please contact Saladax Technical Service for assistance.

Expected Values

No precise relationship between paclitaxel plasma concentrations and antineoplastic efficacy has been established. A number of reports have demonstrated wide pharmacokinetic variability of the drug and some reports in the literature suggest that a time above a threshold plasma concentration of 0.05 μ mol/L ($T_{C>0.05}$: 42.7 ng/mL) increases the risk of toxicity. In the literature reported $T_{C>0.05}$ values range from 5-55 hours^{20, 22, 23}, and plasma concentrations above 0.05 μ mol/L for periods greater than 30 hours have been associated with

increased risk of toxicity in the form of grade 3/4 neutropenia^{19, 20}. The $T_{C>0.05}$ can be calculated using commercial software for the determination of pharmacokinetic parameters or with the MyCare Drug Exposure Calculator (GEN-DEC). Blood samples to determine $T_{C>0.05}$ can be drawn using existing limited sampling strategies which involve 2 draw times^{26, 27}. However, Joerger *et al.* have developed a limited sampling strategy using only one draw^{28, 29}. From a data set of 135 patients with draw times of 18-30 hours¹⁴, the measured plasma concentrations were below 320 ng/mL, with the majority between 40 and 80 ng/mL, and only 12% below 20 ng/mL.

Paclitaxel drug concentrations should not be the only means of therapeutic drug management. The assay should be used in conjunction with information available from clinical evaluations and other diagnostic procedures. The patient's current and past medical condition, the complexity of the clinical state, individual differences in sensitivity to paclitaxel and toxic effects of paclitaxel, co-administration of other drugs, and a number of other factors may result in different optimal blood concentrations of paclitaxel for any individual. Each patient should undergo comprehensive clinical assessment prior to modification of the treatment plan and clinicians should carefully monitor patients during therapy initiation and dose adjustments. Given the heterogeneity of the patient's clinical state, clinicians should establish a desired therapeutic management range based on their own experience as well as each patient's clinical requirements. Paclitaxel concentrations for individual patients should be determined using a single, consistent method to minimize confounding effects associated with cross-reactivity and recognition of metabolites.

Specific Performance Characteristics

Typical performance data for the MyPaclitaxel Assay obtained on a Beckman (formerly Olympus) AU400™ or Beckman Coulter AU480™ are shown below. Results obtained in individual laboratories may differ from these data.

Precision

Precision was determined as described in CLSI Guideline EP5-A2.

Low, medium and high paclitaxel controls and 4 patient sample pools containing varying paclitaxel concentrations were assayed in duplicate twice a day for 20 days at one site using 2 assay lots and two analyzers. The means were

determined and SD and % CVs were calculated for repeatability and within-laboratory precision.

The following are representative results from two assay lots at one site.

Sample Type	Assigned Value (ng/mL)	N	Mean (ng/mL)	Repeatability		Within-laboratory precision	
				SD	CV	SD	CV
Controls	60	320	61	2.0	3.3%	3.9	6.4%
	120	336	124	2.4	2.0%	4.8	3.9%
	200	336	202	3.1	1.5%	6.0	3.0%
Human Plasma	50	336	50	1.7	3.4%	5.0	9.9%
	100	336	98	2.0	2.0%	6.0	6.1%
	180	336	177	3.6	2.0%	8.3	4.7%
	280	336	278	4.1	1.5%	9.6	3.5%

Limit of Quantitation (LoQ)

LoQ was determined as described in CLSI Guideline EP17-A.

The LoQ of an assay is the lowest analyte concentration that can be measured with acceptable accuracy and precision. For the MyPaclitaxel Assay, the LoQ was defined as the lowest paclitaxel concentration at which the total analytical error was $\leq 35\%$. The LoQ determined was 24 ng/mL.

Limit of Detection (LoD)

LoD was determined as described in CLSI Guideline EP17-A.

The LoD of an assay is the lowest analyte concentration that can be detected with stated confidence, but not necessarily measured quantitatively. For the MyPaclitaxel assay, the LoD was defined as the lowest paclitaxel concentration at which 95% of the results exceeded the assay Limit of Blank (LoB), where the assay LoB was the 95th percentile of the results generated from the analysis of specimens that did not contain paclitaxel. The LoD determined was 17 ng/mL.

Specificity

Paclitaxel metabolites and Structurally Related Compounds

Indicated concentrations of each of the following paclitaxel metabolites or structurally related compounds were added to 150 ng/mL paclitaxel-spiked plasma and were assayed using the MyPaclitaxel Assay. The cross-reactivity in the assay for each compound is given below.

Compound	Cross-Reactivity	
7-epi-paclitaxel	100 ng/mL	200 %
6 α -hydroxy-paclitaxel	500 ng/mL	3.4 %
3' <i>p</i> -hydroxy-paclitaxel	500 ng/mL	3.0 %
Baccatin III	10,000 ng/mL	< 0.1 %
10-deacetyl-paclitaxel	100 ng/mL	113 %
10-deacetyl-baccatin	10,000 ng/mL	1.2 %

Common Co-Administered Drugs

Unless otherwise indicated, 100,000 ng/mL of each compound was spiked into paclitaxel free plasma or plasma spiked with 150 ng/mL Paclitaxel. The cross-reactivity of all compounds tested in the assay was $\leq 0.1\%$.

1-methylxanthine	Cromolyn	Phenobarbital**
3-methylxanthine	Cyclophosphamide	Phenytoin
5-FU	Dexamethasone	Prednisolone
5-methyl-1H-benzimidazole	Doxorubicin	Prednisone
6-mercaptopurine	Erythromycin	Procainamide
7-methylxanthine*	Folic acid	Prochlorperazine
8-chlorotheophylline	Formoterol	Quinidine sulfate
Acetaminophen	Gentamycin	Retinol
Acetylsalicylic acid	Heparin Lithium Salt	Rifampicin
Adenine	Heparin Sodium Salt	Salicylic acid
Albuterol (Salbutamol)	Hydrocortisone	Spectinomycin
Allopurinol	Hypoxanthine	Streptomycin
Amikacin	Ibuprofen	Theobromine
Amoxicillin	Ipratropium	Theophylline
Ampicillin	Irinotecan	Tobramycin
Azathioprine	Kanamycin A	Valproic acid
Benzimidazole	Leucovorin	Vancomycin

Caffeine	Lidocaine	Vitamin B1
Calcium carbonate	Methotrexate	Vitamin B2
Calcium citrate	Morphine**	Vitamin B3
Capecitabine	N-acetylprocainamide	Vitamin B6
Carbamazepine	Nicotine	Vitamin B12
Carbamazepine-10,11-epoxide*	Nornicotine	Vitamin C
Carboplatin	Oxaliplatin	Vitamin D3
Ceftriaxone	Oxypurinol	Vitamin E
Cephalosporin	Penicillin G	Vitamin K1
Cisplatin	Pentobarbital**	Xanthine
Cotinine	Pentoxifylline	β-carotene

*50,000 ng/mL **10,000 ng/mL

Recovery

Assay recovery is the degree to which an analyte result reported by an assay agrees with the true analyte concentration in the specimen. For the MyPaclitaxel Assay recovery was defined as the percent recovery of paclitaxel in normal plasma specimens spiked with paclitaxel relative to the theoretical paclitaxel concentration.

To assess recovery, paclitaxel was spiked at 4 concentrations: 50, 70, 140, and 280 ng/mL into 4 normal K₂EDTA plasmas. The percent deviations at each spike level among the calibrators lots and analyzers evaluated ranged from 87%-113%.

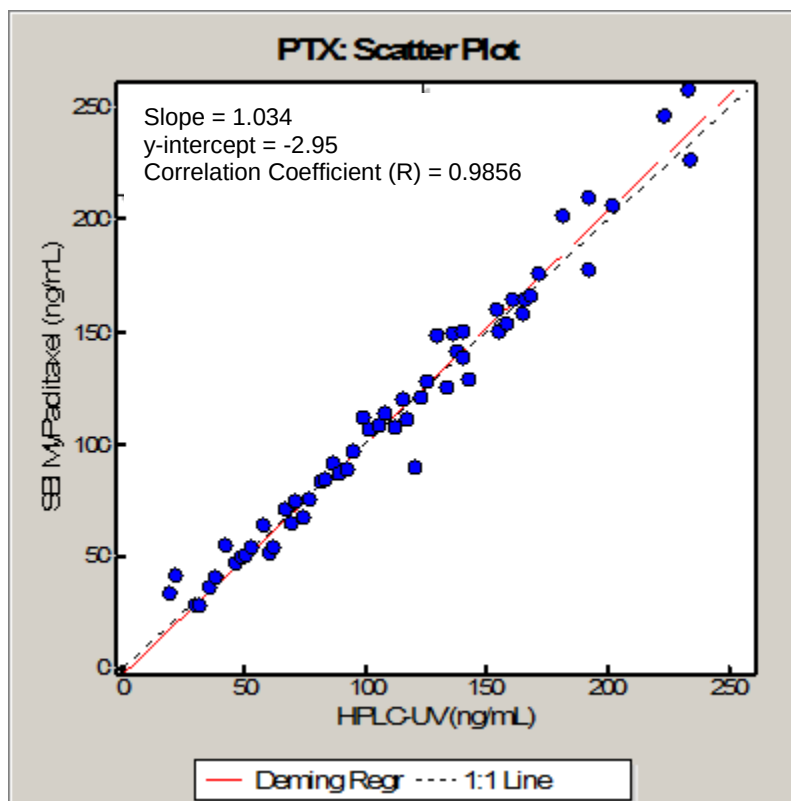
Linearity

Assay linearity was determined as described in CLSI Guideline EP6-A, which states that quantitative results in the linear range of the assay are directly proportional to the concentration of the analyte in the sample. In the linear range of the MyPaclitaxel at levels >30 ng/mL the deviation from linearity was within ± 2%, individual replicate deviation was <14% and mean deviation was less than 7%. At 30 ng/mL the the greatest deviation from linearity was 15%, the greatest individual deviation for linearity samples was less than 23%, and the greatest mean deviation for linearity samples was less than 17%.

To determine assay linearity, 11 samples were prepared according to CLSI EP6-A. The assay was linear from 20-330 ng/mL.

Method Comparison

A comparison between the Saladax MyPaclitaxel Assay and an HPLC-UV method was performed using 57 human plasma samples obtained from patients receiving paclitaxel therapy. The range of paclitaxel concentrations in the MyPaclitaxel Assay was 28 – 257 ng/mL with a mean of 112 ng/mL. The range of paclitaxel concentrations for the HPLC-UV reference method was 20 – 234 ng/mL with a mean of 111 ng/mL. Results of the Deming regression analysis are below.



Package Insert References:

1. Abraxane, *Abraxane for Injectable Suspension (paclitaxel protein-bound particles for injectable suspension) (albumin-bound)*, in *Package Insert*, 2007, Abraxis: Los Angeles (CA).
2. Taxol, *Taxol (Paclitaxel) Injection*, in *Package Insert*, 2011, Bristol-Myers Squibb: Princeton (NJ).
3. Sparano, J.A., et al., *Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2008. **358**(16): p. 1663-71.
4. Ozols, R.F., et al., *Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study*. Journal of Clinical Oncology, 2003. **21**(17): p. 3194-3200.
5. Sonnichsen, D.S., et al., *Saturable pharmacokinetics and paclitaxel pharmacodynamics in children with solid tumors*. J Clin Oncol, 1994. **12**(3): p. 532-8.
6. Henningsson, A., et al., *Mechanism-based pharmacokinetic model for paclitaxel*. J Clin Oncol, 2001. **19**(20): p. 4065-73.
7. Mould, D.R., et al., *Population analysis of a 24-h paclitaxel infusion in advanced endometrial cancer: a gynaecological oncology group study*. Br J Clin Pharmacol, 2006. **62**(1): p. 56-70.
8. Huizing, M.T., et al., *Pharmacokinetics of paclitaxel and metabolites in a randomized comparative study in platinum-pretreated ovarian cancer patients*. J Clin Oncol, 1993. **11**(11): p. 2127-35.
9. Jiko, M., et al., *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel with carboplatin or gemcitabine, and effects of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms in patients with urogenital cancers*. Int J Clin Oncol, 2007. **12**(4): p. 284-90.
10. Sissung, T.M., et al., *Association of ABCB1 genotypes with paclitaxel-mediated peripheral neuropathy and neutropenia*. Eur J Cancer, 2006. **42**(17): p. 2893-6.
11. Henningsson, A., et al., *Association of CYP2C8, CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 polymorphisms with the pharmacokinetics of paclitaxel*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(22): p. 8097-104.
12. Nakajima, M., et al., *Pharmacokinetics of paclitaxel in ovarian cancer patients and genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP3A4, and MDR1*. J Clin Pharmacol, 2005. **45**(6): p. 674-82.
13. Joerger, M., et al., *Quantitative effect of gender, age, liver function, and body size on the population pharmacokinetics of Paclitaxel in patients with solid tumors*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(7 Pt 1): p. 2150-7.
14. Joerger, M., et al., *Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel and carboplatin in ovarian cancer patients: a study by the European organization for research and treatment of cancer-pharmacology and molecular mechanisms group and new drug development group*. Clin Cancer Res, 2007. **13**(21): p. 6410-8.
15. Woo, M.H., et al., *Phase I targeted systemic exposure study of paclitaxel in children with refractory acute leukemias*. Clinical Cancer Research, 1999. **5**(3): p. 543-549.

16. de Jonge, M.E., et al., *Bayesian pharmacokinetically guided dosing of paclitaxel in patients with non-small cell lung cancer*. Clinical Cancer Research, 2004. **10**(7): p. 2237-2244.
17. Joerger, M., et al., *Open-label, randomized study of individualized, pharmacokinetically (PK)-guided dosing of paclitaxel combined with carboplatin in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patient*. J Clin Oncol, 2015. **33**(suppl; abstr 8051).
18. Huizing, M.T., et al., *Pharmacokinetics of paclitaxel and carboplatin in a dose-escalating and dose-sequencing study in patients with non-small-cell lung cancer*. Journal of Clinical Oncology, 1997. **15**(1): p. 317-329.
19. Miller, A.A., et al., *Prospective evaluation of body surface area as a determinant of paclitaxel pharmacokinetics and pharmacodynamics in women with solid tumors: Cancer and Leukemia Group B Study 9763*. Clinical Cancer Research, 2004. **10**(24): p. 8325-8331.
20. Ohtsu, T., et al., *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel: A 3-hour infusion versus a 24-hour infusion*. Clinical Cancer Research, 1995. **1**(6): p. 599-606.
21. Kobayashi, M., et al., *Pharmacokinetic study of weekly administration dose of paclitaxel in patients with advanced or recurrent gastric cancer in Japan*. Gastric Cancer, 2007. **10**(1): p. 52-7.
22. Gianni, L., et al., *Nonlinear pharmacokinetics and metabolism of paclitaxel and its pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships in humans*. Journal of Clinical Oncology, 1995. **13**(1): p. 180-190.
23. Mielke, S., et al., *Association of Paclitaxel pharmacokinetics with the development of peripheral neuropathy in patients with advanced cancer*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(13): p. 4843-50.
24. Li, Z., 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*. Bioconjug Chem, 1997. **8**(6): p. 896-905.
25. McNally, A.J., et al., *An online immunoassay for LSD: comparison with GC-MS and the Abuscreen RIA*. J Anal Toxicol, 1996. **20**(6): p. 404-8.
26. Huizing, M.T., et al., *Limited sampling strategies for investigating paclitaxel pharmacokinetics in patients receiving 175 mg/m² as a 3-hour infusion*. Clinical Drug Investigation, 1995. **9**(6): p. 344-353.
27. Stroud, J.R., P. Muller, and G.L. Rosner, *Optimal sampling times in population pharmacokinetic studies*. Journal of the Royal Statistical Society Series C-Applied Statistics, 2001. **50**(part 3): p. 345-359.
28. Joerger, M., et al., *Evaluation of a pharmacology-driven dosing algorithm of 3-weekly paclitaxel using therapeutic drug monitoring: a pharmacokinetic-pharmacodynamic simulation study*. Clin Pharmacokinet, 2012. **51**(9): p. 607-17.
29. CESAR-EWIV, *An Open-Label, Randomized, Parallel Group Study of Patients Treated with Paclitaxel with Standard Dosing versus Pharmacokinetic Guided Dose Adjustment in Patients with Advanced NSCLC*. in CESAR Study of Paclitaxel Therapeutic Drug Monitoring: CEPAC-TDM, clinical study. CESAR C-III-002 / EUDRACT 2010-023688-16, Completed.



Paclitaxel (MyPaclitaxel™) Assay

Dieser Beipackzettel ist vor dem Gebrauch des Produkts sorgfältig zu lesen. Die Anleitung auf dem Beipackzettel muss befolgt werden. Die Zuverlässigkeit der Testergebnisse kann nicht gewährleistet werden, wenn die Anweisungen auf dem Beipackzettel nicht genau beachtet werden.

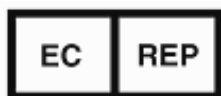
Kundendienst:

Telefon: +1 610 419-6731

Fax: +1 484 547-0590

Legende der verwendeten Symbole

	Medizinprodukt zur <i>in-vitro</i> -Diagnostik		Bitte Gebrauchsanweisung lesen
	Chargencode (Lot)		Temperaturbeschränkung
	Katalognummer		Verwendbar bis
	Achtung: Begleitdokumentation beachten		Autorisierte EU-Vertretung
	Reagenz 1		Hersteller
	Reagenz 2		Kalibrator A



EMERGO EUROPA
 Prinsessegracht 20
 2514 AP Den Haag
 Niederlande



Saladax Biomedical, Inc.
 116 Research Drive
 Bethlehem, PA 18015 USA
www.saladax.com



Verwendungszweck

Der Saladax Paclitaxel (MyPaclitaxel) Assay ist ein Medizinprodukt zur *in-vitro*-Diagnostik, das zur quantitativen Bestimmung von Paclitaxel in Humanplasma vorgesehen ist, wobei automatisierte klinische Routineanalysegeräte verwendet werden, um die Anwendung einer Paclitaxel-Therapie zu unterstützen.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Paclitaxel (Taxol®, Abraxane®) ist ein häufig verwendetes Antineoplastikum und gehört der Substanzklasse der Taxoide an. Es verfügt über ein breites Wirkungsspektrum bei Patienten mit verschiedenen soliden Tumoren, z. B. Ovarialkarzinom, Brustkrebs, nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) und AIDS-bedingtem Kaposi-Sarkom^{1, 2}. Paclitaxel wird nicht nur zur Behandlung fortgeschrittener Erkrankungen verwendet, sondern auch bei der adjuvanten Behandlung von Brustkrebs³ und in frühen Erkrankungsstadien, zum Beispiel beim Ovarialkarzinom⁴. Wie die meisten Zytostatika besitzt auch Paclitaxel ein enges therapeutisches Fenster, und die interindividuelle Variabilität der Pharmakokinetik (PK) trägt maßgeblich zu unvorhersehbaren Toxizitäten bei.

Paclitaxel wird gewöhnlich alle 3 Wochen intravenös in Dosen von 135 - 175 mg/m² über einen Zeitraum von 3 Stunden verabreicht². Die körperoberflächen (KOF)-basierte Dosierung ist jedoch mit einer bis zu 10-fachen⁵⁻⁹ Variabilität der systemischen Paclitaxel-Exposition assoziiert. Es wurde gezeigt, dass genetische Polymorphismen⁹⁻¹² und verschiedene andere Kovariablen (Geschlecht, KOF und Alter)^{13, 14} die Elininierung von Paclitaxel beeinträchtigen. Inter-Patienten-Variabilität der Exposition konnte durch Verwendung individueller pharmakokinetischer (PK) Daten der Patienten bei der Dosierung reduziert werden. Es wurden mehrere solcher Studien mit Dosisanpassungen durchgeführt. In die erste Studie wurden Kinder mit refraktärer akuter Leukämie eingeschlossen¹⁵. Zwölf Stunden nach Beginn einer 24-stündigen Infusion wurden die Dosen bei einer Gruppe so angepasst, dass die Ziel-AUC von 2,9 mg•h/l erreicht wurde. Mit Dosisanpassungen lagen die resultierenden AUCs zwischen 75 % und 125 % des Zielwertes, während in der Gruppe, in der keine Dosisanpassung vorgenommen wurde, keine im Zielbereich lag ($p=0,021$). In einer weiteren Studie wurde für Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC die Paclitaxel-Dosis nach dem ersten Zyklus der Paclitaxelgabe (175 mg/m² über 3 Stunden) angepasst, um einen Paclitaxel-Plasmaspiegel von 0,10 µmol/l länger als 15 Stunden aufrechtzuerhalten¹⁶. Der

prozentuale Anteil der Patienten, deren Dosis angepasst werden musste, um die angestrebte Expositionsdauer zu erreichen, fiel innerhalb von 6 Infusionsläufen von 36 % auf 11 %. Die vor kurzem abgeschlossene Studie der Central European Society for Anticancer Research (CESAR) zum therapeutischen Drug Monitoring von Paclitaxel (TDM-CEPAC) randomisierte 304 Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC, die mit Paclitaxel/Carboplatin behandelt wurden. Die Patienten erhielten entweder eine Standard-Dosis (Gruppe A) oder eine PK-geleitete Dosis (Gruppe B), wobei die PTX Dosen auf der Grundlage der $T_{C>0,05}$ im vorhergehenden Zyklus auf eine $T_{C>0,05}$ von 26 bis 31 Stunden angepasst wurden. Der Anteil der Patienten mit suprathérapeutischer PTX Exposition wurde von 41 % in Zyklus 1 auf 2 % in Zyklus 6 reduziert¹⁷. Diese Studien demonstrierten, dass therapeutisches Dosismanagement (TDM) von Paclitaxel mit individueller Dosisanpassung möglich ist und für Patienten, die eine Paclitaxel-Chemotherapie erhalten, bessere Ergebnisse liefern kann.

Es gibt immer mehr Hinweise darauf, dass eine Beziehung zwischen Paclitaxel-Plasmaspiegeln und arzneimittelbedingter Toxizität und klinischem Behandlungserfolg besteht^{14, 18-20}. Die schwerwiegendste Toxizität, die während der Paclitaxel-Behandlung beobachtet wurde, ist die Knochenmarksuppression (Neutropenie, Anämie, Thrombozytopenie), gefolgt von Gesamtdosisphänomenen wie Neurotoxizität mit häufig auftretender peripherer Neuropathie.

Der pharmakokinetische (PK) Parameter, der sich als relevantester Prädiktor für hämatologische Toxizität, Neuropathie und in einigen Studien auch für den klinischen Behandlungserfolg erwiesen hat, ist die Expositionszeit über einem Paclitaxel-Plasmaspiegel von 0,05 $\mu\text{mol/l}$ (weniger häufig 0,10 $\mu\text{mol/l}$ ¹⁸) oder $T_{C>0,05}$. Die am häufigsten auftretende Nebenwirkung war Neutropenie^{7, 9, 12, 14, 19, 21, 22}. Ein großer Datensatz einer multizentrischen pharmakologischen Studie mit 135 Patientinnen mit Ovarialkarzinom, die eine Paclitaxel/Carboplatin-Behandlung erhielten, wurde 2007 von Joerger *et al.* veröffentlicht¹⁴. Paclitaxel $T_{C>0,05}$ war signifikant höher bei Patientinnen mit schwerer Neutropenie als bei Patientinnen ohne oder mit schwacher Neutropenie. Der beste Diskriminator zwischen schwacher und schwerer Neutropenie war eine Paclitaxel $T_{C>0,05}$ zwischen 24 und 30 Stunden. Für Neuropathien demonstrierten Mielke *et al.* ein signifikantes Risiko von peripherer Neuropathie bei Paclitaxel $T_{C>0,05} >10,6$ Stunden ($p=0,023$)²³. In der großen, oben erwähnten, randomisierten CEPAC-TDM Studie führte PK-geleitete Dosierung zu einer klinisch relevanten Verringerung der Neuropathie im Vergleich zur Standard-Dosierung (Grad ≥ 2 Neuropathie 14 % vs. 27 %, $p <0,001$). Niedrigere durchschnittliche PTX Dosen

(132 vs. 197 mg/m², $p < 0,001$) hatten keinen negativen Einfluss auf das klinische Ergebnis der Gesamt-Studienpopulation - Gruppe A und B: objektive Ansprechrate von 32 % vs. 29 % ($p = 0,70$) und progressionsfreies Überleben von 5,2 vs 4,7 Monaten (Hazard Ratio 1,1, 95 % CI 0,8-1,4, $p = 0,54$).

Eine Paclitaxel Expositionszeit über der Schwellenkonzentration war auch mit dem klinischen Behandlungserfolg verbunden, wenn auch in geringerem Umfang. Huizing *et al.* untersuchten Patienten mit fortgeschrittenem NSCLC und stellten fest, dass verschiedene Schwellenwerte mit verschiedenen Behandlungsergebnissen korrelierten. Patienten mit längerer Paclitaxel- $T_{C>0,10}$ wiesen eine längere mediane Überlebenszeit auf als Patienten mit einer kürzeren $T_{C>0,10}$ (8,2 im Vergleich zu 4,8 Monaten, $p=0,06$) und Paclitaxel $T_{C>0,05}$ korrelierte signifikant mit verbesserter Zeit bis zur Progression der Erkrankung (TTP) (82,0 im Vergleich zu 62,2 Wochen, $p=0,05$)¹⁸. Joerger *et al.* zeigten ebenfalls, dass bei Ovarialkarzinom-Patientinnen, die dreiwöchentliche Paclitaxel/Carboplatin-Behandlungen erhielten, $T_{C>0,05}$ mit verbesserter TTP korrelierte (85,2 im Vergleich zu 63,3 Wochen; $p=0,05$)¹⁴.

Das Ziel von Paclitaxel-TDM besteht darin, jene Patienten zu identifizieren, bei denen ein Toxizitätsrisiko besteht. Diese Informationen können verwendet werden, um 1) zu entscheiden, ob GCSF (Granulozyten koloniestimulierender Faktor) prophylaktisch verabreicht werden soll, um Neutropenie vorzubeugen, und/oder 2) die Dosis zu einer effektiven Exposition *anzupassen*, und dabei gleichzeitig unterhalb der Plasmakonzentration zu bleiben, bei der mit höherer Wahrscheinlichkeit Toxizitäten zu erwarten sind.

PK-basiertes therapeutisches Dosismanagement (TDM) für Paclitaxel ist derzeit keine klinische Realität, was teilweise auf den Mangel an schnellen und kostengünstigen Methoden zur Überwachung der Plasma- Konzentrationen von Krebsmedikamenten zurückzuführen ist. Die Überwachung mit chromatografischen Methoden wie Flüssigchromatographie mit Massenspektrometrie-Kopplung (LC-MS) *ist möglich*, aber die Kosten pro Test sind bei diesen Methoden hoch und sie erfordern eine umfassende Vorbehandlung der Proben. Die Probenvorbehandlungsschritte (Extraktion in organisches Lösungsmittel, Trocknen und Resuspension in wässriges Lösungsmittel) können die Endmesswerte erheblich verfälschen. Im Vergleich dazu ist der MyPaclitaxel-Assay eine praktische, kostengünstige und schnelle Methode, die Onkologen beim Paclitaxel-Dosismanagement unterstützt.

Grundlagen des Verfahrens

Der MyPaclitaxel-Assay (US-Patent-Nr. 7,175,993) ist ein homogener, aus zwei Reagenzien bestehender Nanopartikel-Agglutinations-Immunoassay zur Messung der Paclitaxelkonzentration in Humanplasma. Er basiert auf der Messung von Streulicht- oder Absorptionsänderungen, die bei der Aggregation von Nanopartikeln auftreten, die Antikörper auf Ihrer Oberfläche gebunden haben. Diese Agglutination wird im Wellenlängenbereich zwischen 400 und 650 nm mit automatisierten klinischen Analysegeräten gemessen. Bei dieser Technologie dienen multivalente Wirkstoffkonjugate als Bindungspartner für Paclitaxel-selektive Antikörper, die kovalent mit der Oberfläche von Nanopartikeln verbunden sind. Bei Abwesenheit von freiem Paclitaxel erzeugt diese Reaktion große Aggregate die Auflicht streuen, was zu einer Zunahme der beobachteten Absorption der Lösung führt. Wenn eine Paclitaxel-haltige Probe hinzugegeben wird, wird die Agglutinationsreaktion teilweise inhibiert. Antikörper, die an das Paclitaxel aus der Probe gebunden sind, stehen nicht länger zur Verfügung, um die Aggregation der Nanopartikel zu fördern, was die Streuung des Auflichts und die beobachtete Absorption der Lösung mindert. Dadurch wird mit steigender Paclitaxelkonzentration eine Inhibitionskurve erzeugt: Ist kein Wirkstoff in der Probe vorhanden, resultiert dieses in maximaler Absorption, hohe Wirkstoffkonzentrationen führen zu minimaler Absorption. Die Messung der Änderungen von Streulicht oder Absorption als Funktion der Wirkstoffmenge ergibt eine konzentrationsabhängige Kurve^{24, 25}.

Reagenzien

MyPaclitaxel Assay (**REF** PTX-RGT) enthält:

1. **Reaktionspuffer** (**R1**) enthält: Agglutinationsverstärker, Protein und Puffer.
2. **Nanopartikelreagenz** (**R2**) enthält: an Nanopartikel gebundene monoklonale Antikörper in einer Pufferlösung.

Weitere, nicht im Lieferumfang enthaltene, erforderliche Materialien:

REF PTX-CAL – MyPaclitaxel Kalibrator-Kit

REF PTX-CON – MyPaclitaxel Kontroll-Kit

REF PTX-CON-C111 – MyPaclitaxel Kontroll-Kit für cobas® c111

Weitere verfügbare Materialien, nicht erforderlich:

REF GEN-DEC MyCare Drug Exposure Calculator

Vorsichts- und Warnhinweise

Nur zur Verwendung in der In-Vitro-Diagnostik.

Bei der Arbeit mit Laborchemikalien sind die üblichen Vorsichtsmaßnahmen einzuhalten.

Alle Komponenten des MyPaclitaxel-Assays enthalten weniger als 0,1 % Natriumazid. Die genaue Übersicht finden Sie im Reagenz-Abschnitt dieser Packungsbeilage. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Betroffene Bereiche mit reichlich Wasser spülen. Bei Verschlucken der Reagenzien oder Kontakt mit den Augen ist sofort ein Arzt aufzusuchen. Beim Entsorgen dieser Reagenzien immer mit viel Wasser nachspülen, um eine Azidansammlung zu vermeiden.

Anweisungen zur Handhabung und Lagerung

Die Reagenzien, Kalibratoren und Kontrollen gekühlt bei 2 bis 8°C aufbewahren. Nicht einfrieren.

Das Nanopartikel-Reagenz (R2) vor der Verwendung durch vorsichtiges Umdrehen (3 bis 5 Mal) der R2-Reagenzflasche mischen; dabei Blasenbildung vermeiden.

Angaben zur Stabilität

Bei vorschriftsmäßiger Lagerung und Handhabung sind die Reagenzien bis zum Verfallsdatum stabil.

Entnahme und Handhabung der Proben

Mit dem MyPaclitaxel-Assay können Plasma (EDTA)-Proben verwendet werden. Mindestens 2 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen abnehmen. Die Blutprobe durch Venenpunktion oder aus einem peripherem Infusionsanschluss abnehmen. Die Probe **24 ± 6 (18 – 30) Stunden nach dem Beginn der Infusion** abnehmen. Die

Anfangszeit der Infusion und die tatsächlichen Entnahmezeiten sollten notiert werden.

Die Proben sollten direkt nach der Entnahme auf Eis gelegt und innerhalb von 12 Stunden nach der Entnahme zu Plasma aufgearbeitet werden. Plasma unter Vermeidung der Zellschicht oben vom Röhrchen abnehmen (Kontamination von Plasma mit Blutzellen kann die Ergebnisse verfälschen), und das Plasma in ein verschliessbares zweites Röhrchen übertragen. Die Probe zur sofortigen Messung (innerhalb von 7 Tagen) bei 2 bis 8°C lagern; für längeres Lagern einfrieren ($\leq -20^{\circ}\text{C}$). Wenn die Probe an ein externes Testlabor geschickt wird, kann sie zunächst bei 2 bis 8°C oder eingefroren gelagert und dann, auf Eispackungen, für eine Lieferung innerhalb von 7 Tagen versandt werden.

Testverfahren

Eine gerätespezifische Anleitung und die Testparameter sind vor der Verwendung des Tests dem Anwendungsblatt für das jeweilige Analysegerät zu entnehmen.

Probenverdünnungsverfahren

Proben mit Paclitaxel-Konzentrationen von mehr als 320 ng/ml können im Verhältnis von 1:2 verdünnt werden, um die obere Messbereichsgrenze auf 960 ng/ml zu erhöhen. Proben, die ausserhalb des Messbereiches liegen, können mit Paclitaxel-Kalibrator A (CAL A) manuell 1:2 verdünnt (ein Teil Probe und zwei Teile Kalibrator A) und dann erneut analysiert werden.

Kalibrierung

Der MyPaclitaxel-Assay erzeugt bei Verwendung des MyPaclitaxel-Kalibratorkits eine Kalibrationskurve über einen Bereich von 0 bis 320 ng/ml. Die untere Nachweisgrenze von Paclitaxel in Plasma für den MyPaclitaxel-Assay beträgt 17 ng/ml.

Überprüfen Sie die Assay-Kalibrierung durch Messung der MyPaclitaxel-Kontrollen.

Häufigkeit der Kalibrierung

Eine Kalibration sollte erfolgen:

- Nach dem Wechsel einer Kalibrator- oder Reagenz- (Kit)-Charge
- Nach der Durchführung größerer Gerätewartungen oder Reparatur.
- Entsprechend den laborspezifischen Anforderungen der Verfahren zur Qualitätskontrolle

Qualitätskontrolle

Das MyPaclitaxel-Kontroll-Kit enthält drei Kontroll-Level mit niedriger, mittlerer oder hoher Paclitaxel-Konzentration.

Jedes Labor sollte seine eigenen Kontrollbereiche und -häufigkeiten für die Qualitätskontrolle festlegen. Gemäß guter Laborpraxis (GLP) sollten an jedem Tag, an dem Patientenproben getestet werden, und nach jeder Kalibrierung mindestens zwei Kontroll-Level getestet werden. Nach dem Wechsel von Reagenzien- (Kit), Kalibrator- oder Kontrollchargen sollten die Kontrollzielwerte und -bereiche neu festgelegt werden.

Ergebnisse und Erwartungswerte

Die Geräte-Software berechnet eine nicht lineare Best-Fit-Kurvengleichung, die verwendet wird, um eine Kalibrierungskurve für den Bereich von 0 bis 320 ng/ml Paclitaxel zu erzeugen. Diese Kurve wird verwendet, um die Wirkstoffkonzentrationen in unbekannten Proben anhand deren Absorptionswerten zu berechnen.

Grenzen des Verfahrens

Wie bei allen Analytbestimmungen muss der MyPaclitaxel-Assay zusammen mit Informationen aus klinischen Untersuchungen und anderen diagnostischen Verfahren verwendet werden.

Leistungsmerkmale für den MyPaclitaxel-Assay für andere Körperflüssigkeiten als EDTA-Humanplasma wurden nicht etabliert.

Bei Proben mit den folgenden Zusätzen wurden keine signifikanten Störungen beobachtet:

	Konzentration	
Rheumafaktor	500 IU/ml	
Gesamtprotein-Matrixeinfluß	15,0 g/dl	150 g/l
Ikterische Störungen	96 mg/dl	1.642 µmol/l
Lipämische Störungen	603 mg/dl	6,6 mmol/l
Hämolytat	1.000 mg/dl	

Paclitaxel ist in Vollblut nicht stabil. Hämolyse muss vermieden werden.

Die Paclitaxel-Metaboliten 6 α -Hydroxy-Paclitaxel und 3'*p*-Hydroxy-Paclitaxel zeigen eine Kreuzreaktivität von 3,4 % bzw. 3,0 % mit dem MyPaclitaxel-Assay. Diese Metaboliten werden in der Leber schnell weiter abgebaut und sind zu dem empfohlenen Probenahme-Zeitpunkt nicht im Blut nachweisbar. Die maximale Metabolitenkonzentrationen in Humanblut betragen <10 % des Gesamt-Paclitaxel für 6 α -Hydroxy-Paclitaxel und <5 % für 3'*p*-Hydroxy-Paclitaxel, was eine positive Abweichung von <0,34 % bzw. <0,15 % verursachen würde.

Paclitaxel epimerisiert unter alkalischen Bedingungen zu 7-*epi*-Paclitaxel. Patientenplasmaproben enthalten bei der Probenahme das Epimer noch nicht; eine längere Lagerung bei 2-8°C (>7 Tage) oder Zimmertemperatur (>6 Stunden) führt jedoch zur Bildung des Epimers. Eine ordnungsgemäße Handhabung der Patientenproben ist unerlässlich, um verfälschte Ergebnisse zu vermeiden.

Wie bei allen Assays, die Mausantikörper verwenden, besteht die Möglichkeit von Störungen durch humane Anti-Mausantikörper (HAMA) in der Probe. Proben mit solchen Antikörpern können inkorrekte Paclitaxel-Werte erzeugen, die mit dem klinischen Profil des Patienten nicht vereinbar sind. Wenn Sie Störungen durch HAMA vermuten, kontaktieren Sie bitte den technischen Kundendienst von Saladax.

Erwartungswerte

Es wurde keine präzise Beziehung zwischen Paclitaxel-Plasmaspiegeln und antineoplastischer Wirksamkeit etabliert. Zahlreiche Berichte haben eine hohe pharmakokinetische Variabilität des Arzneimittels aufgezeigt, und einige Berichte in der Fachliteratur gehen davon aus, dass eine Expositionszeit oberhalb eines Plasmakonzentrationsschwellenwerts von 0,05 µmol/l ($T_{C>0,05}$: 42,7 ng/ml) das Toxizitätsrisiko erhöht. Die in der Fachliteratur angegebenen $T_{C>0,05}$ -Werte

variieren von 5 bis 55 Stunden^{20, 22, 23}, und Plasmaspiegel über 0,05 µmol/l für Zeiträume von mehr als 30 Stunden wurden mit einem erhöhten Toxizitätsrisiko in Form von Grad 3/4 Neutropenien in Verbindung gebracht^{19, 20}. Die $T_{C>0,05}$ kann entweder mit kommerzieller Software zur Bestimmung pharmakokinetischer Parameter berechnet werden oder mit dem MyCare Drug Exposure Calculator. Blutproben zur Bestimmung der $T_{C>0,05}$ können mithilfe begrenzter Probenahmen mit 2 Probenahme-Zeiten entnommen werden^{26, 27}. Joerger *et al.* entwickelten jedoch eine begrenzte Probenahme-Strategie, bei der nur eine Probe entnommen wird^{28, 29}. Bei einem Datensatz von 135 Patienten mit Entnahmezeiten von 18 bis 30 Stunden¹⁴ lagen die gemessenen Plasmakonzentrationen unterhalb von 320 ng/ml, wobei der Großteil zwischen 40 und 80 ng/ml und nur 12 % unterhalb von 20 ng/ml lagen.

Paclitaxel-Arzneimittelkonzentrationen dürfen nicht das einzige Mittel im therapeutischen Arzneimittel-Management sein. Die Testergebnisse müssen zusammen mit Informationen aus klinischen Untersuchungen und anderen diagnostischen Verfahren verwendet werden. Die Patientenhistorie und der momentane Gesundheitszustand des Patienten, die Komplexität der Erkrankung, die individuellen Unterschiede bei der Empfindlichkeit gegenüber Paclitaxel und der toxischen Wirkungen von Paclitaxel, die gleichzeitige Verabreichung anderer Arzneimittel und eine Reihe anderer Faktoren können bewirken, dass die optimalen Blutkonzentrationen von Paclitaxel für jede Person anders ist. Jeder Patient muss vor Änderungen des Behandlungsplans einer umfassenden klinischen Untersuchung unterzogen werden und die Ärzte sollten ihre Patienten während der Einleitung der Therapie und während Dosisänderungen aufmerksam beobachten. Angesichts der Heterogenität des klinischen Zustandes der Patienten sollten Ärzte den gewünschten therapeutischen Bereich basierend auf eigenen Erfahrungen und den Bedürfnissen des Patienten festlegen. Paclitaxel-Konzentrationen für einzelne Patienten sollten anhand einer einzigen, konsistenten Methode bestimmt werden, um störende Effekte durch Kreuzreaktivität und die Erkennung von Metaboliten zu minimieren.

Spezifische Leistungsmerkmale

Nachfolgend sind typische, mit einem Beckman Coulter (vormals Olympus) AU400™ oder Beckman Coulter AU480™ erzielte Leistungsdaten für den MyPaclitaxel-Assay aufgelistet. Individuelle Ergebnisse eines Labors können von diesen Daten abweichen.

Präzision

Die Präzision wurde gemäß der Beschreibung in CLSI-Richtlinie EP5-A2 bestimmt.

Kontrollen mit niedrigen, mittleren und hohen Paclitaxel-Konzentration und 4 Pools aus Patientenproben mit unterschiedlichen Paclitaxel-Konzentrationen wurden für 20 Tage zweimal täglich in Doppelbestimmung mit 2 Assay-Chargen und auf zwei Analysegeräten an einem einzigen Standort gemessen. Die Mittelwerte wurden bestimmt, und Standardabweichung (SA) und % VKs für die Wiederholbarkeit und Präzision innerhalb des Labors berechnet.

Die nachfolgenden Ergebnisse sind typische Ergebnisse von zwei Assay-Chargen in einem Testzentrum.

Proben- typ	Zielwert (ng/ml)	N	Mittelwert (ng/ml)	Wiederhol- barkeit		Präzision innerhalb des Labors	
				SA	VK	SA	VK
Kontrol- len	60	320	61	2,0	3,3%	3,9	6,4%
	120	336	124	2,4	2,0%	4,8	3,9%
	200	336	202	3,1	1,5%	6,0	3,0%
Human- plasma	50	336	50	1,7	3,4%	5,0	9,9%
	100	336	98	2,0	2,0%	6,0	6,1%
	180	336	177	3,6	2,0%	8,3	4,7%
	280	336	278	4,1	1,5%	9,6	3,5%

Quantifizierungslimit (LoQ)

Der LoQ-Wert wurde, wie in der CLSI-Richtlinie EP17-A beschrieben, bestimmt.

Dieser Wert ist definiert als die geringste Konzentration des Wirkstoffes, die mit akzeptabler Genauigkeit und Präzision gemessen werden kann. Das LoQ des MyPaclitaxel Assays wurde als niedrigste Paclitaxelkonzentration definiert, bei der der Gesamtanalysefehler $\leq 35\%$ lag. Der LoQ-Wert, der bestimmt wurde, lag bei 24 ng/ml.

Nachweisgrenze (LoD)

Der LoD-Wert wurde, wie in der CLSI-Richtlinie EP17-A beschrieben, bestimmt.

Der LoD-Wert eines Tests ist die niedrigste Arzneimittelkonzentration, die mit einer festgelegten Sicherheit nachgewiesen, aber nicht notwendigerweise

quantitativ gemessen werden kann. Für den MyPaclitaxel Assay wurde der LoD-Wert definiert als die niedrigste Paclitaxel Konzentration, bei der 95 % der Ergebnisse größer waren als der Limit of Blank (LoB), wobei der LoB-Wert das 95. Perzentil der Analyse paclitaxelfreier Proben war. Der LoD-Wert wurde mit 17 ng/ml bestimmt.

Spezifität

Paclitaxel-Metabolite und strukturell verwandte Verbindungen

Die angegebenen Konzentrationen der folgenden Paclitaxel-Metabolite oder strukturell verwandten Verbindungen wurden Plasma hinzugefügt, das mit 150 ng/ml Paclitaxel gespikt war. Anschliessend wurde das Plasma mit dem MyPaclitaxel-Assay gemessen. Die Kreuzreaktivität des Assay für jede Verbindung ist unten angegeben.

Substanz	Kreuzreaktivität	
7-epi-Paclitaxel	100 ng/ml	200 %
6 α -Hydroxy-Paclitaxel	500 ng/ml	3,4 %
3' <i>p</i> -Hydroxy-Paclitaxel	500 ng/ml	3,0 %
Baccatin III	10.000 ng/ml	<0,1 %
10-Deacetyl-Paclitaxel	100 ng/ml	113 %
10-Deacetylbaccatin	10.000 ng/ml	1,2 %

Häufig mitverabreichte Arzneimittel

Sofern nicht anderweitig angegeben, wurden 100.000 ng/ml jeder Substanz in Paclitaxel-freies Plasma oder in mit 150 ng/ml Paclitaxel gespiktem Plasma gegeben. Bei diesem Assay lag die Kreuzreaktivität aller getesteten Substanzen unter 0,1 %.

1-Methylxanthin	Cromolyn	Phenobarbital**
3-Methylxanthin	Cyclophosphamid	Phenytoin
5-FU	Dexamethason	Prednisolon
5-Methyl-1H-Benzimidazol	Doxorubicin	Prednison
6-Mercaptopurin	Erythromycin	Procainamid
7-Methylxanthin*	Folsäure	Prochlorperazin
8-Chlorotheophyllin	Formoterol	Quinidinsulfat
Acetaminophen	Gentamycin	Retinol
Acetylsalicylsäure	Heparin-Lithiumsalz	Rifampicin
Adenin	Heparin-Natriumsalz	Salicylsäure

Albuterol (Salbutamol)	Hydrocortison	Spectinomycin
Allopurinol	Hypoxanthin	Streptomycin
Amikacin	Ibuprofen	Theobromin
Amoxicillin	Ipratropium	Theophyllin
Ampicillin	Irinotecan	Tobramycin
Azathioprin	Kanamycin A	Valproinsäure
Benzimidazol	Leucovorin	Vancomycin
Koffein	Lidocain	Vitamin B1
Calciumcarbonat	Methotrexat	Vitamin B2
Calciumcitrat	Morphin**	Vitamin B3
Capecitabin	N-Acetylprocainamid	Vitamin B6
Carbamazepin	Nicotin	Vitamin B12
Carbamazepin-10,11-Epoxid*	Nornicotin	Vitamin C
Carboplatin	Oxaliplatin	Vitamin D3
Ceftriaxon	Oxypurinol	Vitamin E
Cephalosporin	Penicillin G	Vitamin K1
Cisplatin	Pentobarbital**	Xanthin
Cotinin	Pentoxifyllin	β -Carotin

*50.000 ng/ml **10.000 ng/ml

Wiederfindung

Die Wiederfindung eines Tests ist der Grad der Übereinstimmung zwischen der durch einen Assay bestimmten Analytkonzentration und der tatsächlichen Analytkonzentration. Für den MyPaclitaxel Assay wurde die Wiederfindung definiert als die prozentuale Wiederfindung von Paclitaxel in normalen Plasmaproben, die mit Paclitaxel gespickt wurden, im Verhältnis zur theoretisch vorhandenen Paclitaxelkonzentration.

Zur Beurteilung der Wiederfindung wurde Paclitaxel in den Konzentrationen 50, 70, 140 und 280 ng/ml in 4 normale K₂EDTA Plasmaproben gespickt. Die prozentuale Abweichung bei jeder Spike-Konzentration lag über die verwendeten Geräte und Kalibratorchargen zwischen 87 und 113 %.

Linearität

Die Linearität des Tests wurde bestimmt, wie in CLSI-Rechtlinie EP6-A beschrieben. Diese besagt, dass quantitative Ergebnisse im linearen Bereich des Tests direkt proportional zu der Konzentration des Analyten in der Probe sind. Im linearen Bereich von MyPaclitaxel lag bei Werten >30 ng/ml die Abweichung

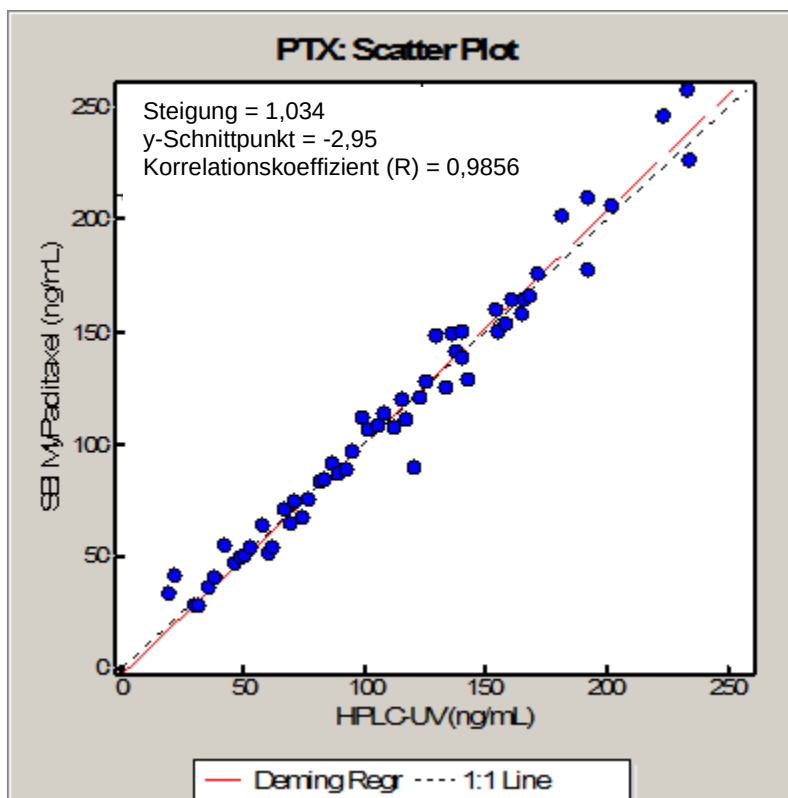
innerhalb von $\pm 2\%$, die Abweichung einzelner Replikate betrug $<14\%$ und die mittlere Abweichung war $<7\%$.

Bei 30 ng/ml betrug die größte Abweichung 15 %, die größte Einzelabweichung für Linearitäts-Proben betrug weniger als 23 %, und die größte mittlere Abweichung für Linearitäts-Proben betrug weniger als 17 %.

Zur Bestimmung der Assay-Linearität wurden 11 Proben mit Paclitaxel-Konzentrationen nach Richtlinie EP6-A hergestellt. Der Assay war über einen Bereich von 20 – 330 ng/ml linear.

Methodenvergleich

Ein Vergleich zwischen dem Saladax MyPaclitaxel -Assay und einer HPLC-UV-Methode wurde mit 57 Humanplasmaproben durchgeführt, welche von Patienten gewonnen wurden, die eine Paclitaxel-Therapie erhielten. Der Bereich der Paclitaxel-Konzentration für den MyPaclitaxel Assay betrug 28 bis 257 ng/ml mit einem Mittelwert von 112 ng/ml. Der Bereich der Paclitaxel-Konzentration für die HPLC-UV Referenzmethode betrug 20 bis 234 ng/ml mit einem Mittelwert von 111 ng/ml. Die Ergebnisse der Deming-Regressionsanalyse sind unten gezeigt.



Referenzen der Packungsbeilage:

1. Abraxane, *Abraxane for Injectable Suspension (paclitaxel protein-bound particles for injectable suspension) (albumin-bound)*, in *Package Insert*, 2007, Abraxis: Los Angeles (CA).
2. Taxol, *Taxol (Paclitaxel) Injection*, in *Package Insert*, 2011, Bristol-Myers Squibb: Princeton (NJ).
3. Sparano, J.A., et al., *Weekly paclitaxel in the adjuvant treatment of breast cancer*. New England Journal of Medicine, 2008. **358**(16): p. 1663-71.
4. Ozols, R.F., et al., *Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study*. Journal of Clinical Oncology, 2003. **21**(17): p. 3194-3200.
5. Sonnichsen, D.S., et al., *Saturable pharmacokinetics and paclitaxel pharmacodynamics in children with solid tumors*. J Clin Oncol, 1994. **12**(3): p. 532-8.
6. Henningsson, A., et al., *Mechanism-based pharmacokinetic model for paclitaxel*. J Clin Oncol, 2001. **19**(20): p. 4065-73.
7. Mould, D.R., et al., *Population analysis of a 24-h paclitaxel infusion in advanced endometrial cancer: a gynaecological oncology group study*. Br J Clin Pharmacol, 2006. **62**(1): p. 56-70.
8. Huizing, M.T., et al., *Pharmacokinetics of paclitaxel and metabolites in a randomized comparative study in platinum-pretreated ovarian cancer patients*. J Clin Oncol, 1993. **11**(11): p. 2127-35.
9. Jiko, M., et al., *Pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel with carboplatin or gemcitabine, and effects of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms in patients with urogenital cancers*. Int J Clin Oncol, 2007. **12**(4): p. 284-90.
10. Sissung, T.M., et al., *Association of ABCB1 genotypes with paclitaxel-mediated peripheral neuropathy and neutropenia*. Eur J Cancer, 2006. **42**(17): p. 2893-6.
11. Henningsson, A., et al., *Association of CYP2C8, CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 polymorphisms with the pharmacokinetics of paclitaxel*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(22): p. 8097-104.
12. Nakajima, M., et al., *Pharmacokinetics of paclitaxel in ovarian cancer patients and genetic polymorphisms of CYP2C8, CYP3A4, and MDR1*. J Clin Pharmacol, 2005. **45**(6): p. 674-82.
13. Joerger, M., et al., *Quantitative effect of gender, age, liver function, and body size on the population pharmacokinetics of Paclitaxel in patients with solid tumors*. Clin Cancer Res, 2006. **12**(7 Pt 1): p. 2150-7.
14. Joerger, M., et al., *Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel and carboplatin in ovarian cancer patients: a study by the European organization for research and treatment of cancer-pharmacology and molecular mechanisms group and new drug development group*. Clin Cancer Res, 2007. **13**(21): p. 6410-8.
15. Woo, M.H., et al., *Phase I targeted systemic exposure study of paclitaxel in children with refractory acute leukemias*. Clinical Cancer Research, 1999. **5**(3): p. 543-549.

16. de Jonge, M.E., et al., *Bayesian pharmacokinetically guided dosing of paclitaxel in patients with non-small cell lung cancer*. Clinical Cancer Research, 2004. **10**(7): p. 2237-2244.
17. Joerger, M., et al., *Open-label, randomized study of individualized, pharmacokinetically (PK)-guided dosing of paclitaxel combined with carboplatin in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) patient*. J Clin Oncol, 2015. **33**(suppl; abstr 8051).
18. Huizing, M.T., et al., *Pharmacokinetics of paclitaxel and carboplatin in a dose-escalating and dose-sequencing study in patients with non-small-cell lung cancer*. Journal of Clinical Oncology, 1997. **15**(1): p. 317-329.
19. Miller, A.A., et al., *Prospective evaluation of body surface area as a determinant of paclitaxel pharmacokinetics and pharmacodynamics in women with solid tumors: Cancer and Leukemia Group B Study 9763*. Clinical Cancer Research, 2004. **10**(24): p. 8325-8331.
20. Ohtsu, T., et al., *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of paclitaxel: A 3-hour infusion versus a 24-hour infusion*. Clinical Cancer Research, 1995. **1**(6): p. 599-606.
21. Kobayashi, M., et al., *Pharmacokinetic study of weekly administration dose of paclitaxel in patients with advanced or recurrent gastric cancer in Japan*. Gastric Cancer, 2007. **10**(1): p. 52-7.
22. Gianni, L., et al., *Nonlinear pharmacokinetics and metabolism of paclitaxel and its pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships in humans*. Journal of Clinical Oncology, 1995. **13**(1): p. 180-190.
23. Mielke, S., et al., *Association of Paclitaxel pharmacokinetics with the development of peripheral neuropathy in patients with advanced cancer*. Clin Cancer Res, 2005. **11**(13): p. 4843-50.
24. Li, Z., 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*. Bioconjug Chem, 1997. **8**(6): p. 896-905.
25. McNally, A.J., et al., *An online immunoassay for LSD: comparison with GC-MS and the Abuscreen RIA*. J Anal Toxicol, 1996. **20**(6): p. 404-8.
26. Huizing, M.T., et al., *Limited sampling strategies for investigating paclitaxel pharmacokinetics in patients receiving 175 mg/m² as a 3-hour infusion*. Clinical Drug Investigation, 1995. **9**(6): p. 344-353.
27. Stroud, J.R., P. Muller, and G.L. Rosner, *Optimal sampling times in population pharmacokinetic studies*. Journal of the Royal Statistical Society Series C-Applied Statistics, 2001. **50**(part 3): p. 345-359.
28. Joerger, M., et al., *Evaluation of a pharmacology-driven dosing algorithm of 3-weekly paclitaxel using therapeutic drug monitoring: a pharmacokinetic-pharmacodynamic simulation study*. Clin Pharmacokinet, 2012. **51**(9): p. 607-17.
29. CESAR-EWIV, *An Open-Label, Randomized, Parallel Group Study of Patients Treated with Paclitaxel with Standard Dosing versus Pharmacokinetic Guided Dose Adjustment in Patients with Advanced NSCLC*. in CESAR Study of Paclitaxel Therapeutic Drug Monitoring: CEPAC-TDM, clinical study. CESAR C-III-002 / EUDRACT 2010-023688-16, Completed.