

University of Groningen

## Implementing Dried Blood Spot sampling in transplant patient care

Veenhof, Herman

DOI:  
[10.33612/diss.111979995](https://doi.org/10.33612/diss.111979995)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2020

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Veenhof, H. (2020). *Implementing Dried Blood Spot sampling in transplant patient care*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. Rijksuniversiteit Groningen.  
<https://doi.org/10.33612/diss.111979995>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## Nederlandse samenvatting

Niertransplantatie is momenteel de beste behandeling voor patiënten met een ernstige nierziekte. Eenmaal getransplanteerd worden patiënten behandeld met immuunsysteem onderdrukkende geneesmiddelen (de immunosuppressiva) om te voorkomen dat het lichaam het getransplanteerde orgaan afstoot. Als de immunosuppressiva te laag worden gedoseerd is er een verhoogde kans op acute afstoting. Als deze geneesmiddelen te hoog worden gedoseerd kunnen er ernstige bijwerkingen optreden. Omdat er grote verschillen in blootstelling aan de immunosuppressiva zijn, zowel tussen patiënten als binnen één patiënt, wordt de dosering van deze geneesmiddelen ingesteld op basis van de bloedspiegel. Hierdoor is het nodig dat de transplantatiepatiënt regelmatig naar het ziekenhuis gaan om een veneus bloedmonster af te staan. Dit proces wordt ook wel therapeutisch geneesmiddel monitoring genoemd, in het Engels Therapeutic Drug Monitoring (TDM).

Met de introductie van de Dried Blood Spot (gedroogde bloedspot, DBS) methode hebben patiënten de mogelijkheid om thuis bloed af te nemen. Door middel van een vingerprik kunnen twee druppels bloed op een kaartje worden aangebracht. Na drogen kan dit kaartje met de post verstuurd worden naar het laboratorium. Vanuit deze bloedspotjes kunnen de bloedspiegels van de immunosuppressiva gemeten worden en serum creatinine waarden. Het serum creatinine geeft de functie van de nieuwe nier weer. De DBS methode kan potentieel de last voor transplantatiepatiënten verlichten en kostenbesparend zijn. In dit proefschrift wordt de implementatie van DBS thuismonitoring voor transplantatie patiënten geëvalueerd. Hierbij wordt er gekeken naar de analytische en klinische performance van de DBS methode, kosten, logistiek, de afname prestaties van de patiënt en patiënttevredenheid.

In **hoofdstuk 2** beschreven we een verbetering van de al bestaande analyse methode om immunosuppressiva spiegels te meten in DBS monsters. De analyse wordt gedaan door middel van vloeistof chromatografie gecombineerd met massa spectrometrie, kortweg LC-MS/MS. De bestaande analysemethode kan 4 immunosuppressiva meten (tacrolimus, everolimus, sirolimus en cyclosporine). Een vijfde immunosuppressivum (mycofenolzuur) werd toegevoegd aan deze methode. Het doel was om de DBS methode analytisch te valideren op 2 verschillende LC-MS/MS systemen (van de merken Agilent® en Thermo®) over een bereik van klinische relevante hematocrieten zonder dat het nodig is om te corrigeren voor het hematocriet. Daarnaast werd de validatie uitgevoerd met Whatman DMPK-C DBS kaarten in plaats van de 31-ET-CHR kaarten. Op beide LC-MS/MS systemen voldeed de analyse methode aan de analytische eisen voor alle immunosuppressiva. De systemische afwijking (bias) veroorzaakt door het

hematocriet was binnen de gestelde eis van 15% voor alle immunosuppressiva, voor hematocriet waarden tussen de 0.23 (v/v) en 0.48 (v/v). Dit geldt voor een bereik van klinisch relevante dalspiegels, waardoor er geen hematocriet correctie nodig is. De bias veroorzaakt door het hematocriet bij everolimus en sirolimus was hoger dan bij de andere 3 immunosuppressiva, in het bijzonder voor lage concentraties (3 µg/mL). De resultaten gegenereerd met behulp van het Thermo systeem zijn getest in een klinische validatie studie waarbij de analytische resultaten van vingerprik DBS monsters zijn vergeleken met gepaarde veneus afgenomen volbloed monsters. Voor cyclosporine en voor tacrolimus werd er geconcludeerd dat de resultaten van de DBS analyse inwisselbaar zijn met de resultaten van de volbloed analyse, wat betekent dat de DBS analyse gebruikt kan worden voor thuismonitoring van patiënten.

In **hoofdstuk 3** was het doel om inwisselbaarheid tussen analytische resultaten van vingerprik DBS monsters en veneuze monsters aan te tonen voor tacrolimus, cyclosporine en creatinine. De resultaten van de Agilent analyse methode beschreven in **hoofdstuk 2** werden hiervoor gebruikt. Alle vingerprik DBS monsters en veneuze monsters werden afgenomen door een getrainde doktersassistente in maximaal 10 minuten tijd, tijdens een routine bezoek van een volwassen niertransplantatie patiënten aan het ziekenhuis. Nadat er een aantal DBS monsters werden geëxcludeerd vanwege onvoldoende kwaliteit bleven er respectievelijk 172, 104 en 58 gepaarde monsters over van in totaal 172 verschillende patiënten voor creatinine, tacrolimus en cyclosporine. In de methode vergelijking waarbij er gebruik gemaakt werd van Passing & Bablok regressie analyse en Bland-Altman analyse werden er geen klinisch significante verschillen tussen DBS en volbloed waarden gevonden voor tacrolimus en cyclosporine. Voor creatine werd een verschil gevonden tussen de DBS en plasma resultaten. Dit was volgens verwachting vanwege het verschil in matrix (veneus afgenomen plasma en capillair volbloed uit een vingerprik). Het verschil was systematisch waardoor het mogelijk is om een conversie formule maken om DBS creatinine waarden om te zetten in plasma creatinine waarden: (creatinine plasma concentratie in µmol/L) = (creatinine concentratie in DBS in µmol/L)/0.73. Dit hoofdstuk laat zien dat DBS monsters veneuze monsters kunnen vervangen voor de monitoring van bloedspiegels van tacrolimus, cyclosporine en creatinine.

In **hoofdstuk 4** werd er een soortgelijke klinische validatie studie uitgevoerd als beschreven in **hoofdstuk 3**, maar dan voor de immunosuppressiva everolimus en sirolimus. Omdat deze twee geneesmiddelen minder frequent gebruikt worden dan tacrolimus was er slechts een beperkte hoeveelheid monsters beschikbaar (respectievelijk 39 en 44 gepaarde DBS en veneuze monsters voor sirolimus en everolimus). Naast de genoemde validatiestappen in **hoofdstuk 3** werden er twee additionele validatie parameters onderzocht: de klinisch acceptatie grens en de

voorspellende performance zoals beschreven door Sheiner en Beal. De klinische acceptatie grens werd in een multidisciplinair team bestaande uit apothekers, analisten en nefrologen bepaald. De grens werd als volgt gedefinieerd: de resultaten van minimaal 80% van de gepaarde monsters moet binnen 15% van het gemiddelde van beide monsters zitten. In Passing & Bablok regressie analyse en Bland-Altman analyse werden er geen klinisch relevante verschillen gevonden tussen DBS en volbloed resultaten. De voorspellende performance voldeed aan de vooraf gedefinieerde eis. Hieruit blijkt dat veneuze bloedwaarden voorspeld kunnen worden uit DBS waarden. Echter, de klinische acceptatie grens werd niet gehaald met 77.3% voor sirolimus en 61.5% voor everolimus. In dit hoofdstuk concluderen we dat DBS monsters veneuze monsters niet kunnen vervangen voor het monitoren van sirolimus en everolimus bloedspiegels omdat er niet voldaan werd aan de vooraf gedefinieerde klinische acceptatie grens. Als er een klinische setting is waarin de klinische acceptatie grens minder streng kan worden gedefinieerd is de DBS methode wellicht wel geschikt.

In **hoofdstuk 5** werd de kwaliteit van 464 bloed spot kaarten uit 4 verschillende landen (Paraguay, Wit-Rusland, Bangladesh en Indonesië) onderzocht. Deze DBS monsters werden verkregen als onderdeel van een TDM studie naar geneesmiddelen die gebruikt worden in de behandeling van tuberculose. De DBS monsters werden afgenomen door ongetrainde gezondheidszorgmedewerkers die slechts een geschreven handleiding beschikbaar hadden waarin staat hoe de DBS afname procedure werkt. Er werd een checklist ontwikkeld waarmee de kwaliteit van een DBS monsters kan worden vastgesteld. Twee DBS experts gebruikten de checklist, onafhankelijk van elkaar, om alle DBS monsters te scoren. Slechts 54% van alle DBS monsters voldeed aan de kwaliteitseisen. In de meeste gevallen kwam dit door verkeerde monstername. Daarnaast lijken monsters uit landen met een relatief hoge luchtvochtigheid (Paraguay, Bangladesh en Indonesië) beïnvloed te zijn door de hoge luchtvochtigheid wat zichtbaar was door licht rode ringen rondom de gedroogde bloeddruppels. Dit hoofdstuk laat zien dat het trainen van gezondheidsmedewerkers in het correct uitvoeren van de DBS monstername belangrijk is voor het verkrijgen van een hoog percentage DBS monsters van voldoende kwaliteit in klinisch onderzoek.

In **hoofdstuk 6** werd de ontwikkeling van een web-applicatie (app) beschreven die het mogelijk maakt een DBS te beoordelen op kwaliteit op het moment van monstername, door middel van het analyseren van een foto van het DBS monster. Aangaande DBS monster kwaliteit is het oordeel van een ervaren laboratorium medewerker, gebaseerd op de checklist uit **hoofdstuk 5**, de gouden standaard. Nadat de app is ontwikkeld werd die getest door het oordeel van de app te vergelijken met deze gouden standaard. De performance kwalificatie werd vooraf gesteld op 95%, wat betekent dat de app hetzelfde oordeel moet maken als de gouden standaard in minimaal 95% van de

gevallen. De data uit **hoofdstuk 3** en **hoofdstuk 5** werd gebruikt om de app te testen en zijn gedefinieerd als respectievelijk 'getrainde setting' en 'ongetrainde setting'. In de getrainde setting haalde de app een performance kwalificatie van 90.0% met 4.1% vals negatieven (DBS van onvoldoende kwaliteit wordt incorrect beoordeeld als voldoende door de app) en 5.9% vals positieven (DBS van voldoende kwaliteit wordt incorrect beoordeeld als onvoldoende door de app). In de ongetrainde setting was de performance kwalificatie 87.4% met 5.5% vals negatieven en 7.1% vals positieven. Indien de app aanwezig was geweest in de getrainde en ongetrainde setting, correct gebruikt was en het opnieuw afnemen van een DBS monster resulteerde in een goede kwaliteit DBS, dan was het aantal DBS monsters van voldoende kwaliteit van respectievelijk 80.0% naar 95.9% gegaan en van 42.2% naar 87.9%. De app kan worden gebruikt in zowel een patiëntzorg als in een research setting om het aantal DBS monsters van goede kwaliteit te verhogen.

In **hoofdstuk 7** beschreven we de eerste randomisatie-gecontroleerde klinische studie waarin de kosten en effecten van het implementeren van DBS thuismonitoring in de transplantatie patiëntenzorg werden onderzocht. In deze single-center, gerandomiseerde klinische studie gebruikten 25 transplantatie patiënten DBS thuismonitoring bovenop de gebruikelijke zorg de eerste 6 maanden na transplantatie, terwijl 23 patiënten alleen de gebruikelijke zorg ontvingen. Het doel was om te onderzoeken of het gebruik van DBS thuismonitoring leidt tot een verminderd aantal bezoeken aan de polikliniek, verminderde kosten en verbeterde patiënttevredenheid. Helaas was het aantal bezoeken in de DBS groep niet lager (11.2, standaarddeviatie (SD) 1.7) dan in de controle groep (10.9, SD 1.4) ( $p=0.48$ ). Daarnaast waren de kosten per polikliniekbezoek in de DBS groep (€537, SD €179) niet verschillend ten op zichte van de controle groep (€510, SD €229) ( $p = 0.66$ ). Dit ligt waarschijnlijk aan het feit dat slechts 56% van het verwachte aantal DBS monsters opgestuurd waren en dat 20% van het verwachte aantal DBS monsters op tijd waren geanalyseerd, wat inhoudt dat het resultaat van de analyse beschikbaar is in het medisch dossier van de patiënt op het moment dat de patiënt bij de nefroloog op de polikliniek is. Echter, 82.6% van de patiënten is bereid om thuis DBS monsters af te nemen indien dit er toe leidt dat er minder polikliniek bezoeken nodig zijn. Optimalisatie van het logistieke proces aangaande het versturen en analyseren van DBS monsters is cruciaal in de implementatie van DBS in de patiëntenzorg.

In **hoofdstuk 8** werd er een richtlijn gepresenteerd aangaande de ontwikkeling, analytische en klinische validatie van DBS analyse methoden die gebruikt worden voor TDM. De huidige validatie eisen, beschreven in richtlijnen voor traditionele matrices (bloed, plasma, serum), bevatten niet alle aspecten die nodig zijn hiervoor. Daarom werden er in dit hoofdstuk aanvullende parameters beschreven die nodig zijn voor

het valideren en kwantificeren van klein-molecuul geneesmiddelen in DBS monsters waarbij gebruik gemaakt wordt van chromatografische methoden. Daarnaast werd er advies gegeven over hoe deze parameters onderzocht kunnen worden en werd er advies gegeven over hoe de analyse methoden toegepast kunnen worden in praktijk. Eerst werden er overwegingen beschreven voor de methode ontwikkelings fase. Daarna werden de gebruikelijke parameters aangaande analytische validatie beschreven in de context van DBS analyse met de toevoeging van DBS-specifieke parameters. Als derde werden klinische validatie studies beschreven, inclusief het benodigde aantal klinische monsters en patiënten, vergelijking van DBS waarden met veneus bloed waarden, statistische methodes en interpretatie, spot kwaliteit, afname procedure, duplicaten, uitschieters, geautomatiseerde analyse en kwaliteitsprogramma's. Als laatste werd cross-validatie bediscussieerd aangaande veranderingen aan een bestaande afname procedure of bestaande analyse methode.

In **hoofdstuk 9** beschreven we de ontwikkeling en analytische validatie van een LC-MS/MS methode voor tacrolimus, everolimus, sirolimus, cyclosporine en mycofenolzuur gebruik makend van Volumetric Absorptive Micro Sampling (VAMS) tipjes (Mitra®). Deze tipjes zuigen een exact volume bloed op wat potentieel de volume-gerelateerde hematocriet effecten elimineert. Daarnaast is de afname procedure voor de patiënt potentieel eenvoudiger. De bias veroorzaakt door het hematocriet effect was kleiner dan 15% voor alle immunosuppressiva tussen een hematocriet bereik van 0.20 tot 0.60, behalve voor cyclosporine waarbij het bereik 0.27 tot 0.60 was. Er was een trend zichtbaar waarbij hogere concentraties van het geneesmiddel gecombineerd met lage hematocriet waarden resulteerden in gereduceerde extractie opbrengst (recovery). Echter, voor de relevante klinische concentratie range voldeed de bias aan de eis en was deze kleiner dan gevonden werd bij DBS (**hoofdstuk 2**). De analysemethode werd getest voor tacrolimus in een klinische validatie studie beschreven in **hoofdstuk 10**. In totaal werden er 130 gepaarde vingerprik VAMS monsters, vingerprik DBS monsters en veneuze bloedmonsters verkregen van 107 verschillende volwassen niertransplantatie patiënten. Methode vergelijking werd op dezelfde manier uitgevoerd als beschreven in **hoofdstuk 4**. Een multidisciplinair team definieerde vooraf de klinische acceptatie grens: de resultaten van minimaal 80% van de gepaarde monsters moet binnen 15% van het gemiddelde van beide monsters zitten zoals beschreven in de **hoofdstukken 4 en 8**. De kwaliteit van de VAMS en DBS monsters werden beoordeeld: 32.3% van de VAMS monsters en 6.2% van de DBS monsters waren van onvoldoende kwaliteit. Passing & Bablok regressie liet een significant verschil zien tussen VAMS en veneus bloed, met een helling van 0.88 (95% betrouwbaarheidsinterval 0.81-0.97), maar niet tussen DBS en veneus bloed (helling 1.00: 95% betrouwbaarheidsinterval 0.95-1.04). Voor VAMS en DBS werd de klinische acceptatie grens gehaald met respectievelijk 83.0% en 96.6%. VAMS monsters kunnen veneuze monsters vervangen voor tacrolimus

bloedspiegel monitoring, maar de VAMS methode is inferieur aan de DBS methode met betrekking tot monster kwaliteit en inwisselbaarheid met volbloed tacrolimus concentraties.

In **hoofdstuk 11** werd dit proefschrift bediscussieerd en werden toekomst perspectieven beschreven. In dit proefschrift werd beschreven welke stappen er nodig zijn om DBS thuismonitoring van immunosuppressiva bloed spiegels te implementeren voor transplantatiepatiënten. Dit is mogelijk als er aan de volgende criteria wordt voldaan. (1) De DBS analyse methode moet snel en robuust zijn en moet voldoen aan alle algemene en DBS-specifieke analytische voorwaarden. (2) DBS analyse methoden moeten valide worden bevonden in een goed ontworpen en uitgevoerde klinische validatie studie. Daarnaast moeten er een extern kwaliteitsprogramma zijn. (3) De logistiek moet optimaal zijn. Deze kan eventueel verbeterd worden door het Track-and-Trace versturen van monsters, herinneringssystemen voor patiënten om thuis een bloedspot af te nemen en gestandaardiseerde dagen waarop de analyse plaats vindt in het laboratorium. (4) Patiënten getraind worden in de DBS afname procedure waarbij onderdeel van de training is dat patiënten de complete afname procedure uitvoeren onder supervisie van iemand met ervaring.

