

CEDIA™ Gentamicin II Assay

thermo
scientific

IVD For in vitro-diagnostikk

Kun Rx

REF 100016 (13 ml, 11 ml sett)

Tiltenkt bruk

CEDIA™ Gentamicin II Assay er in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr som er beregnet på kvantitering av gentamisin i humant serum eller plasma.

Sammendrag og forklaring av testen

Gentamisin er en aminoglykosid antibiotika brukt til behandling av infeksjoner forårsaket av *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* og andre mikroorganismer. Gentamisins gifteffekt forårsakes av interferens med ribosomal proteinsyntese.^{1,2} Gentamisin metaboliserer svært lite, om noe, og er derfor eliminert som hovedstoff av glomerulær filtrering.

Det terapeutiske området bør måles når det er på topp i tillegg til karkonsentrasjoner. Toppkonsentrasjoner av gentamisin i serum eller plasma angis for å sikre adekvat antimikrobiell aktivitet. Gentamiskonsentrasjoner i kar bidrar normalt til at stoffelimineringen er adekvat, og at stoffkonsentrasjonen er høyere enn minste hemmende konsentrasjon. Gentamiskonsentrasjon i serum eller plasma påvirkes av administrasjonsmetode, mengden av ekstracellulær væske, varigheten av behandlingen og fysiologiske endringer i løpet av sykdomsforløp og behandling. Derfor er overvåkning av topp- og karnivåer av gentamisin i serum eller plasma kritisk for å hindre alvorlige komplikasjoner ved å justere administrert dose som angitt.^{4,5}

CEDIA Gentamicin II Assay bruker rekombinant DNA-teknologi (US Patent nr. 4708929) til å produsere et unikt homogent enzymimmunanalysesystem.⁶

Analysen er basert på det bakterielle enzymet β -galaktosidase, som er genetisk fremstilt i to inaktive fragmenter, det vil si enzymakseptor (EA) og enzymdonor (ED). Disse fragmentene gjenforbindes spontant til å danne et fullt aktivt enzym, som i analyseformatet splitter et substrat og genererer en fargeendring som kan måles spektrofotometrisk.

I analysen konkurrerer analytten i prøven med analytten konjugert i ett inaktivt fragment av β -galaktosidase, om antistoffbindingssteder. Hvis det finnes analytt i prøven, bindes den til antistoffet slik at de inaktive enzymfragmentene kan danne aktive enzymer. Hvis det ikke finnes analytt i prøven, bindes antistoffet til analytten konjugert på det inaktive fragmentet. Dette hemmer gjendannelse av inaktive β -galaktosidasefragmenter, og det dannes ikke noe aktivt enzym. Mengden aktivt enzym som dannes, og resulterende absorpsionsendringer, er direkte proporsjonal med mengden av legemiddel som finnes i prøven.⁸

Reagenser

- 1 EA-rekonstitusjonsbuffer:** Inneholder 3-(N-morpholino)propansulfonsyre, buffersalter, surfaktant og konserveringsmiddel (13 ml).
- 1a EA-reagens:** Inneholder 0,14 g/l enzymakseptor, 9,3 mg/l monoklonalt anti-gentamisin-antistoff, buffersalter, stabilisatorer og konserveringsmiddel.
- 2 ED-rekonstitusjonsbuffer:** Inneholder 3-(N-morpholino)propansulfonsyre, buffersalter, surfaktant og konserveringsmiddel (11 ml).
- 2a ED-reagens:** Inneholder 38 μ g/l enzymdonor konjugert til gentamisin, 2,36 g/l klorofenolrødt- β -D-galaktopyranosid, 1,7 g/l anti-mus-antistoffer av geit, buffersalter, stabilisator og konserveringsmiddel.

Ytterligere materialer som er nødvendige (men som ikke følger med):

REF

100017

Beskrivelse av settet

CEDIA Antibiotic TDM Multi-Cal

Kommersielle kontroller: Kontakt teknisk kundesupport for anbefalinger.

⚠ Forholdsregler og advarsler

FARE: Pulverreagens inneholde ≤ 25 % w/w serum fra geit, ≤ 23 % w/w bovint serumalbumin (BSA), ≤ 11 % w/w tobasisk, vannfri natriumfosfat, ≤ 17 % w/w monobasisk natriumfosfat, $\leq 0,6$ % w/w natriumazid og $\leq 0,1$ % w/w stoffspesifikt antistoff (mus). Flytende reagens inneholder $\leq 0,15$ % w/w natriumazid.

H315 – Forårsaker hudirritasjon.

H317 – Kan utløse en allergisk hudreaksjon.

H319 – Gir alvorlig øyeirritasjon.

H334 – Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding.

EUH032 – Kontakt med syrer frigjør veldig giftig gass.

Unngå å puste inn støv/tåke/damp/sprut. Vask hendene grundig etter bruk. Tilsølte arbeidsklær må ikke fjernes fra arbeidsplassen. Benytt vernehansker/vernebriller/ansiktsskjerm. Ved utilstrekkelig ventilasjon skal åndedrettsvern benyttes. VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann. VED INNÅNDING: Hvis det blir tungt å puste, skal offeret bæres ut i frisk luft og legges i en hvilestilling som gjør det komfortabelt å puste. VED KONTAKT MED ØYENENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser hvis dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp. Ved symptomer i luftveiene: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege. Tilsølte klær må tas av og vaskes før de brukes på nytt. Innhold/beholder skal avhendes i henhold til lokale/regionale/nasjonale/internasjonale bestemmelser.

Reagensene inneholder natriumazid. Unngå kontakt med hud og slimhinner. Skyll berørte områder med rikelige mengder vann. Oppsøk lege straks hvis du får det i øyet, eller ved svelging. Natriumazid kan reagere med bly- eller kobberør og kan danne potensielt eksplodive metallazider. Ved kasting av slike reagenser må du alltid skylle med store volumer med vann for å hindre opphoping av azider. Rengjør eksponerte metalloverflater med 10 % natriumhydroksid.

Klargjøring og oppbevaring av reagens

Se nedenfor for å få informasjon om klargjøring av løsningen for Hitachi-analysatorer. For alle andre analysatorer, se analysatorspesifikke bruksark.

Ta settet ut av kjøleskapet umiddelbart før løsningene skal klargjøres. Klargjør løsningene i følgende rekkefølge for å minimere mulig kontaminasjon.

R2 enzymdonorløsning: Koble flaske 2a (ED-reagens) til flaske 2 (ED-rekonstitusjonsbuffer) med en av de vedlagte adapterne. Bland ved å snu forsiktig på flasken, slik at alt lyofilisert materiale fra flaske 2a overføres til flaske 2. Unngå dannelse av skum. Koble flaske 2a og adapteren fra flaske 2, og kasser dem. Sett hetten på flaske 2, og la den stå ca. 5 minutter ved 15–25 °C. Bland på nytt. Noter rekonstitueringsdatoen på flaskeetiketten. Sett flasken direkte i reagensrommet i analysatoren eller i kjøleoppbevaring, og la den stå 30 minutter før bruk.

R1 enzymakseptorløsning: Koble flaske 1a (EA-reagens) til flaske 1 (EA-rekonstitusjonsbuffer) med en av de vedlagte adapterne. Bland ved å snu forsiktig på flasken, slik at alt lyofilisert materiale fra flaske 1a overføres til flaske 1. Unngå dannelse av skum. Koble flaske 1a og adapteren fra flaske 1 og kast dem. Sett hetten på flaske 1, og la den stå ca. 5 minutter ved 15–25 °C. Bland på nytt. Noter rekonstitueringsdatoen på flaskeetiketten. Sett flasken direkte i reagensrommet i analysatoren eller i kjøleoppbevaring, og la den stå 30 minutter før bruk.

MERKNAD 1: Komponentene i dette settet skal brukes som en integrert enhet. Ikke bland komponenter fra ulike partier.

MERKNAD 2: Unngå krysskontaminering av reagenser ved å bruke riktig reagenskork på riktig reagensflaske. R2-løsningen (enzymdonoren) skal være guloransje i fargen. Rød eller rødlig farge tyder på at reagensen er forurenset og må kasseres.

MERKNAD 3: R1- og R2-løsningene må holde samme temperatur som reagensrommet i analysatoren før analysen utføres. Se det analysatorspesifikke bruksarket for ytterligere informasjon.

MERKNAD 4: For å sikre stabiliteten til rekonstituert EA-reagens må den beskyttes mot langvarig og kontinuerlig eksponering for sterkt lys.

Reagensene skal oppbevares ved 2–8 °C. **MÅ IKKE FRYSES.** Se utløpsdatoen på esken eller flaskeetikettene med hensyn til stabiliteten til de uåpnede komponentene.

R1-løsningen: 30 dager nedkjølt i analysator eller ved 2–8 °C.

R2-løsningen: 30 dager nedkjølt i analysator eller ved 2–8 °C.

Innhenting og håndtering av prøvemateriale

Serum- eller plasmaprøver (Na- eller Li-heparin, Na EDTA) er egnet for bruk i analysen. Vær nøye med å bevare den kjemiske integriteten til serum- eller plasmaprøven fra innhentingsstidspunktet til analysen utføres. Kork prøvene, lagre ved 2–8 °C, og analyser innen én uke etter innhenting. Hvis analysen ikke kan utføres innen 1 uke, eller hvis prøven skal sendes, må du kørke prøven og holde den nedfrys. Oppbevar prøvene ved –20 °C, og analyser innen 4 uker. For å beskytte integriteten til prøven må man ikke fremkalle skumdannelse og unngå gjentatt frysing og optining. Sentrifuger prøver som inneholder partikler. **Alle pasientprøver skal behandles som om de er potensielt smittefarlige.**

Analyseprosedyre

Kjemiske analyseapparater som kan opprettholde en konstant temperatur, pipettere prøver, blande reagenser, måle enzymløst og beregne reaksjonen nøyaktig, kan brukes til å utføre denne analysen. Bruksark med spesifikke instrumentparametre er tilgjengelige fra Microgenics.

MERKNAD: Hvis strekkoden ikke leses av av analyseapparatet, kan strekkodens tallsekvens legges inn manuelt med tastaturet.

Kvalitetskontroll og kalibrering⁷

- Toppunkts kalibrering anbefales
- etter bytte av reagensflaske
- etter bytte av reagensparti
- i henhold til gjeldende kvalitetskontrollprosedyrer

I henhold til god laboratoriepraksis skal minst to nivåer (f.eks. lavt og høyt punkt for medisinsk avgjørelse) av kvalitetskontroller testes hver dag det analyseres pasientprøver og hver gang det utføres kalibrering. Overvåk kontrollverdiene for eventuelle trender eller endringer. Hvis det oppdages trender eller endringer, eller hvis kontrollen ikke restitueres innenfor det angitte området, må alle driftsparametere granskes. Kontakt den tekniske kundesupporten for å få videre hjelp. Alle påkrevde kvalitetskontroller skal utføres i samsvar med lokale, regionale og/eller nasjonale bestemmelser og godkjenningskrav.

Resultater og forventede verdier

CEDIA Gentamisin II Assay er utviklet for å kvantitere pasientprøver mellom 0,24 µg/ml og mengden Antibiotic TDM High Calibrator (12 µg/ml). Prøveresultater under 0,24 µg/ml skal rapporteres som < 0,24 µg/ml. Prøveresultater over 12 µg/ml kan rapporteres som > 12 µg/ml eller fortynnes ved å ta én del prøve og blande med én del Antibiotic TDM Low Calibrator, og så analyseres på nytt. Verdien som innhentes ved ny analyse, skal utledes på følgende måte:

Faktisk verdi = (2 x fortynnet verdi) – konsentrasjon av Antibiotic TDM Low Calibrator

Bruk følgende konversjonsfaktor for å konvertere µg/ml til µmol/l:

$$\begin{aligned}\mu\text{g/ml} \times 2,09 &= \mu\text{mol/l} \\ \mu\text{mol/l} \times 0,49 &= \mu\text{g/ml}\end{aligned}$$

Den terapeutiske effekten og gifteffektene er nært knyttet til konsentrasjonen av stoffet i serum. For de fleste voksne oppnås maksimal terapeutisk respons med gentamisinkonsentrasjoner mellom 5–8 µg/ml. Karkonsentrasjoner mellom 1 og 2 µg/ml sikrer normalt at stofelimineringsen er adekvat.^{1,5} Andre terapeutiske områder for gentamisin har blitt rapportert av andre kontrollører.^{2–4,8,9}

Begrensninger

- Forekomsten av pasienter med antistoffer mot E. coli β-galaktosidase er ekstremt lav. Men enkelte prøver som inneholder slike antistoffer, kan produsere kunstig høye resultater, noe som kanskje ikke stemmer med pasientens kliniske profil.
- Sisomisin forårsaker betydelig interferens (> 50 %) med CEDIA Gentamisin II Assay.
- Som med alle analyser der museantistoffer brukes, finnes det en mulighet for interferens av humane antimuseantistoffer (HAMA) i prøven. Dette kan resultere i feilaktig forhøyede resultater.

Spesifikke ytelsesegenskaper

Vanlige ytelsesresultater fra Hitachi 704-analyseapparatet vises nedenfor.¹⁰ Resultatene som oppnås i laboratoriet, kan avvike fra disse dataene.

Nøyaktighet

Nøyaktigheten ved intraanalyse ble bestemt ved å analysere tjue repetisjoner av hvert av tre kontrollsett, mens nøyaktigheten ved interanalyse ble bestemt ved å gjennomføre enkeltpunktkvantitering på sekstifire gjennomkjøringer. Følgende resultater ble oppnådd.

	Intraanalyse			Interanalyse		
N	20	20	20	64	64	64
$\bar{x}$ (µg/ml)	1,62	5,37	9,31	1,68	5,29	9,24
SD (µg/ml)	0,07	0,12	0,15	0,11	0,25	0,40
CV %	4,3	2,2	1,6	6,55	4,73	4,33

Metodesammenligning

En sammenligning ved bruk av CEDIA Gentamicin II Assay (y) med en kommersielt tilgjengelig FPIA (x) gav følgende korrelasjon (µg/ml):

Lineær regresjon

$$\begin{aligned}y &= 0,98x + 0,17 \\ r &= 0,992 \\ S_{y.x} &= 0,347\end{aligned}$$

Antall prøver målt: 100

Prøvekonsentrasjonene var mellom 0,08 og 10,62 µg/ml.

Linearitet

For å bedømme lineariteten til analysen, ble en høy dose fortynnet med Low Calibrator. Prosentverdien for gjenvinning ble deretter beregnet ved å dividere den målte verdien med den forventede verdien.

Fortynning %	Forventet verdi (µ/ml)	Målt verdi (µ/ml)	% gjenvinning
100	7,97	7,97	100
80	6,41	6,54	102
60	4,85	5,08	105
40	3,28	3,40	104
20	1,72	1,86	108
0	0,16	0,16	100

Gjenvinning

For å kontrollere gjenvinningen til analysen ble gentamisin i form av en høy pasientprøve tilsatt en normal pasientprøve. Prosentverdien for gjenvinning ble deretter beregnet ved å dividere den målte verdien med den forventede verdien.

Fortynning %	Forventet verdi (µ/ml)	Målt verdi (µ/ml)	% gjenvinning
100	8,85	8,85	100
80	7,08	7,27	103
60	5,31	5,52	104
40	3,54	3,70	105
20	1,77	1,74	98
0	0,00	0,00	100

Spesifisitet

Følgende forbindelser ble testet for kryssreaktivitet med analysen, og resultatene ble som følger:

Forbindelse	Kryssreaktivitet (%)
3,4, Dideoksykanamysin	< 0,1
5-fluorocytosin	< 1,0
Amikacin	< 0,1
Amfotericin	< 0,1
Ampicillin	< 0,1
Karbenicillin	< 0,1
Cefamandolnafat	< 0,1
Kefaleksin	< 0,1
Kefalosporin C	< 0,1
Cephaloglysin	< 0,1
Cephalordine	< 0,1
Kefalotin	< 0,1
Kloramfenikol	< 0,1
Klindamycin	< 0,1
Erytromycin	< 0,1
Etakrynsyre	< 1,00
Furosemid	< 0,1
Fusidinsyre	< 0,1
Kanamycin A	< 0,1
Kanamycin B	< 0,1
Linkomycin	< 0,1
Meticillin	< 0,1
Metotreksat	< 0,1
Metylprednisolon	< 0,1
Neomycin	< 0,1
Netilmycin	1,15
Oksytetrasyklin	< 0,1
Penicillin G	< 0,1
Penicillin V	< 0,1
Prednisolon	< 0,1
Rifampin	< 0,1
Sisomicin	62,10
Spektinomycin	< 0,1
Streptomycin	< 0,1
Sulfadiazin	< 0,1
Sulfametoksazol	< 0,1
Sulfanilamid	< 0,1
Sultiam	< 0,1
Tetrasyklin	< 0,1
Ticarcillin	< 0,1
Tobramycin	< 0,1
Trimetoprim	< 1,00
Vancomycin	< 0,1

Interfererende stoffer

Prøver som inneholder gentamisin og de følgende konsentrasjonene av potensielt interfererende stoffer er kvantiterert riktig av analysen:

600 mg hemoglobin/dl
1000 mg triglyserider/dl
30 mg bilirubin/dl

Det å øke de totale serumproteinnivåene til 12,5 g/dl ved å tilsette globulin opptil 5,0 g/dl eller senke de totale serumproteinnivåene til 12,5 g/dl ved å legge til humant serumalbumin opptil 5,5 g/dl hadde ingen effekt på pasientprøvekvantiteringen oppnådd med analysen.

Følsomhet

Analysen er utviklet for å analysere gentamisin i pasientprøver mellom 0,24 og 12 µg/ml.

Referanser

1. Barza M, Scheife T. Drug therapy reviews: Antimicrobial spectrum, pharmacology and therapeutic use of antibiotics-part 4: aminoglycosides. American Journal of Hospital Pharmacy. 1977; 34: 723-737.
2. Sande MA, Mandell GL. Antimicrobial Agents, The Aminoglycosides. In: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, eds. The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan Publishing Company, 1980: 1162-1180.
3. Mattie H. The Clinical Importance of Determination of Aminoglycoside Concentrations, Aminoglycoside Assay Methods and Clinical Relevance. Proceedings of Amsterdam Symposium, 1978.
4. Kahlmeter G. Gentamicin and Tobramycin, Clinical Pharmacokinetics and Nephrotoxicity Aspects on Assay Techniques. Scandinavian Journal of Infectious Disease 1979;132 (suppl. 18).
5. Barza M, Lauermann M. Why Monitor Serum Levels of Gentamicin? Clinical Pharmacokinetics 1978; 3: 202-215.
6. Henderson DR, Friedman SF, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. Clin. Chem. 1986; 32(9): 1637-1641.
7. Data on traceability are on file at Microgenics Corporation.
8. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 1990, 3. utgave, s. 805-807.
9. Dipersio, J.R.: Gentamicin and Other Aminoglycosides, in Pesce, A.J. and Kaplan, L.A. (red) Methods in Clinical Chemistry, C.V. Mosby Co., 1987.
10. Data på fil hos Microgenics Corporation, en del av Thermo Fisher Scientific.

Ordliste:

<http://www.thermofisher.com/symbols-glossary>



Microgenics Corporation,
en del av Thermo Fisher Scientific
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundestøtte og teknisk
støtte for USA:
1-800-232-3342



B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany



Oppdateringer knyttet til pakningsvedlegg finner du på:
www.thermofisher.com/diagnostics

Andre land:

Kontakt den lokale representanten for Thermo Fisher Scientific.