

IVD Zur In-vitro-Diagnostik

Rx Only

REF 100018 (13 ml, 11 ml-Kit)

Anwendungsbereich

Beim CEDIA™ Tobramycin II Assay handelt es sich um ein In-Vitro-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von Tobramycin in Humanserum oder -plasma.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Tobramycin ist ein Aminoglykosid-Antibiotikum, das u.a. zur Behandlung von Infektionen mit folgenden Erregern verwendet wird: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus-Species*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus* und *Enterobacter*. Die toxischen Wirkungen von Tobramycin werden durch eine Störung der Proteinsynthese in den Ribosomen verursacht.¹ Tobramycin wird nur äußerst gering metabolisiert und daher vorwiegend unverändert durch glomeruläre Filtration ausgeschieden.

Der therapeutische Bereich sollte Tal- und Spitzenblutspiegel einschließen. Bestimmte Spitzenserum- bzw. Spitzenplasmakonzentrationen von Tobramycin werden empfohlen, um eine ausreichende antimikrobielle Aktivität zu erzielen. Tobramycin-Talspiegel dienen im Allgemeinen der Vergewisserung, dass das Antibiotikum ausreichend eliminiert wird und seine Konzentration über der unteren Hemmkonzentration liegt. Tobramycin-Serum- und Plasmakonzentrationen werden von der Art der Applikation, dem Volumen der Extrazellulärlüssigkeit, der Dauer der Behandlung und den physiologischen Veränderungen während der Krankheit und der Behandlung beeinflusst. Daher ist eine Überwachung der Tobramycin-Spitzen- und -Talserum- bzw. Plasmakonzentrationen zur Vermeidung schwerer Komplikationen durch richtige Doseinstellung wichtig.²

Der CEDIA Tobramycin- II Assay stützt sich auf rekombinante DNA-Technologie (US-Patentnr. 4708929), die ein besonders homogenes Enzym-Immunoassaysystem liefert.³

Der Assay beruht auf dem bakteriellen Enzym β -Galaktosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente zerlegt wurde, den Enzym-Akzeptor (EA) und den Enzym-Donor (ED). Diese Fragmente verbinden sich spontan wieder unter Bildung des voll aktiven Enzyms, das bei der Durchführung des Tests ein Substrat spaltet und damit eine spektrophotometrisch messbare Farbänderung hervorruft.

Bei der Bestimmung konkurriert der in der Probe enthaltene Analyt mit dem an ein inaktives Fragment der β -Galaktosidase gebundenen Analyten um Antikörper-Bindungsstellen. Der in der Probe enthaltene Analyt bindet an Antikörper, wodurch die inaktiven Enzymfragmente aktives Enzym bilden können. Enthält die Probe keinen Analyten, bindet der an das inaktive Fragment konjugierte Analyt an die Antikörper und die Bildung aktiven Enzyms aus den inaktiven β -Galaktosidase-Fragmenten wird unterdrückt. Die Menge des gebildeten, aktiven Enzyms und die daraus resultierende Änderung der Extinktion sind der Konzentration des Arzneimittels in der Probe direkt proportional.³

Reagenzien

- EA-Rekonstitutionspuffer:** Enthält 3-(N-morpholino)-Propansulfonsäure, Puffersalze, eine oberflächenaktive Substanz und Konservierungsmittel (13 ml).
- 1a EA-Reagens:** Enthält 0,22 g/l Enzym-Akzeptor, 25,5 mg/l monoklonale Anti-Tobramycin-Antikörper, Puffersalze, Trägerprotein, Stabilisator und Konservierungsmittel.
- ED-Rekonstitutionspuffer:** Enthält 3-(N-morpholino)-Propansulfonsäure, Puffersalze, eine oberflächenaktive Substanz und Konservierungsmittel (11 ml).
- 2a ED-Reagens:** Enthält 23,4 μ g/l an Tobramycin konjugierten Enzym-Donor, 2,4 g/l Chlorophenolrot- β -D-Galaktopyranosid, 3,3g/l Anti-Maus-Ziegen-Antikörper, Puffersalze, Stabilisator und Konservierungsmittel.

Zusätzliche benötigte Materialien (separat verkauft):

REF	Beschreibung des Kits
100017	CEDIA Antibiotic TDM Multi-Cal

Handelsübliche Kontrollen
- Unser technischer Kundendienst kann Ihnen Empfehlungen geben

⚠ Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen

GEFAHR: Die Reagenzien enthalten $\leq 35\%$ IgG-Antiseren (Ziege), $\leq 21\%$ Rinderserumalbumin (BSA), $\leq 5\%$ Natriumphosphat, monobasisch, 5% Natriumphosphat, dibasisch, wasserfrei, $\leq 0,6\%$ Natriumazid und $\leq 0,2\%$ wirkstoffspezifische Antikörper. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Betroffene Stellen mit reichlich Wasser spülen. Bei Augenkontakt oder Verschlucken sofort einen Arzt aufsuchen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und potenziell explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung solcher Reagenzien ist immer mit großen Mengen Wasser nachzuspülen, um eine Ansammlung von Aziden zu verhindern. Freiliegende Metallflächen mit 10%iger Natriumhydroxidlösung reinigen.

- H315 - Verursacht Hautreizungen.
H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
H319 - Verursacht schwere Augenreizung.
H334 - Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
EUH032 - Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft

bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Vorbereitung und Aufbewahrung der Reagenzien

Die Vorbereitung der Lösungen für Hitachi-Analysegeräte ist weiter unten beschrieben. Die Vorbereitung anderer Analysegeräte wird im Applikationsblatt für das jeweilige Analysegerät beschrieben.

Das Kit unmittelbar vor Herstellung der Lösungen aus dem Kühlschrank nehmen.

Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, sollten die Lösungen in folgender Reihenfolge zubereitet werden.

R2 - Enzym-Spender-Lösung: Fläschchen 2a (ED-Reagens) mit Fläschchen 2 (ED-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 2a in Fläschchen 2 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und verworfen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 5 Minuten bei 15 bis 25 °C stehen lassen. Nochmals mischen. Das Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen sofort in das Reagenzienfach des Analysegerätes oder in den Kühlschrank stellen und vor Verwendung 30 Minuten stehen lassen.

R1 - Enzym-Akzeptor-Lösung: Fläschchen 1a (EA-Reagens) mit Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 1a in Fläschchen 1 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 1a und Adapter von Fläschchen 1 abnehmen und wegwerfen. Fläschchen 1 verschließen und ca. 5 Minuten bei 15 bis 25 °C stehen lassen. Nochmals mischen. Das Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen sofort in das Reagenzienfach des Analysegerätes oder in den Kühlschrank stellen und vor Verwendung 30 Minuten stehen lassen.

HINWEIS 1: Die Komponenten dieses Kits sind zum Gebrauch als eine Einheit vorgesehen. Komponenten verschiedener Chargen nicht mischen.

HINWEIS 2: Kreuzkontamination von Reagenzien durch Verwechslung der Fläschchenstüpsel vermeiden. Die R2-Lösung (Enzym-Donor) sollte gelb-orange aussehen. Ein rotes bzw. purpurrotes Reagens ist kontaminiert und muss verworfen werden.

HINWEIS 3: Die Lösungen R1 und R2 müssen vor Durchführung des Assays die Lagerungstemperatur des Reagenzienfaches des Analysegerätes erreichen. Zusätzliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

HINWEIS 4: Vor längerer starker Lichteinwirkung schützen, um die Stabilität der rekonstituierten EA-Lösung zu gewährleisten.

Die Reagenzien bei 2 bis 8 °C aufbewahren. **NICHT EINFRIEREN.** Die Stabilität der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf den Etiketten der Verpackung und Fläschchen zu entnehmen.

R1-Lösung: 30 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2 bis 8 °C.

R2-Lösung: 30 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2 bis 8 °C.

Probenentnahme und -handhabung

Dieser Assay eignet sich für Serum- und Plasmaproben (Heparin-Na oder -Li, und Na-EDTA). Zwischen dem Zeitpunkt der Probenabnahme und der Durchführung der Messung darf es zu keiner Schaumbildung kommen und die Probe sollte auch nicht mehrfach eingefroren und aufgetaut werden, da sonst ihre Integrität nicht gewährleistet ist. Partikelhaltige Proben müssen zentrifugiert werden. Die Proben verschließen, bei 2 bis 8 °C zwischenlagern und innerhalb 1 Woche nach Blutentnahme verarbeiten. Lässt sich der Assay nicht innerhalb 1 Woche durchführen oder muss die Probe versandt werden, ist die Probe zu verschließen und einzufrieren. Proben bei -20 °C lagern und innerhalb von 4 Wochen analysieren. Alle Patientenproben stets wie infektiöse Proben handhaben.

Durchführung des Assays

Zur Durchführung dieses Assays können Geräte für chemische Analysen verwendet werden, bei denen die Temperatur konstant gehalten wird und mit denen Proben pipettiert, Reagenzien gemischt, die Geschwindigkeit von Enzymreaktionen gemessen und die Reaktionszeit genau bestimmt werden kann. Applikationsblätter mit spezifischen Instrumentenparametern können von Microgenics angefordert werden, teil von Thermo Fisher Scientific.

HINWEIS: Falls das Analysegerät den Strichcode nicht erfasst, lässt sich die Ziffernfolge auf dem Strichcode-Etikett über die Tastatur eingeben.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung⁴

Eine Zweipunkt-Kalibrierung wird wie folgt empfohlen:

- Nach jedem Reagensflaschenwechsel
- Bei jeder neuen Reagens-Charge
- Wie in den Qualitätskontrollmaßnahmen vorgeschrieben

Gute Laborpraxis verlangt, dass jeden Tag, an dem Patientenproben gemessen werden, sowie nach jeder Kalibrierung mindestens zwei Qualitätskontrollspiegel (unterer und oberer medizinischer Entscheidungspunkt) zu bestimmen sind. Die Kontrollwerte auf mögliche Trends oder Verschiebungen überprüfen. Falls Trends oder Verschiebungen vorliegen oder der Kontrollwert nicht innerhalb des vorgeschriebenen Bereichs liegt, sind alle Betriebsparameter zu überprüfen. Weitere Hilfe können Sie vom Kundendienst erhalten. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

Ergebnisse und erwartete Werte

Der CEDIA Tobramycin II Assay dient der quantitativen Bestimmung von Konzentrationen zwischen 0,24 µg/ml und dem Wert des Antibiotic TDM High-Kalibrators (12 µg/ml). Proben mit einem Wert von unter 0,24 µg/ml sollten als < 0,24 µg/ml angegeben werden. Proben mit einem Wert von über 12 µg/ml werden entweder als > 12 µg/ml enthaltend angegeben oder im Verhältnis 1:1 mit dem Antibiotic TDM Multi-Cal Low-Kalibrator verdünnt und erneut bestimmt. Der bei der Wiederholungsmessung erhaltene Wert leitet sich folgendermaßen ab:

Eigentlicher Wert = (2 x verdünnter Wert) - Konz. des Antibiotic TDM Low-Kalibrators

Mit dem folgenden Umrechnungsfaktor lassen sich µg/ml in µmol/l umrechnen:

$$\begin{aligned} \mu\text{g/ml} \times 2,14 &= \mu\text{mol/l} \\ \mu\text{mol/l} \times 0,47 &= \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Therapeutische Wirksamkeit und Toxizität hängen sehr stark von der Serumkonzentration des Arzneimittels ab. Die meisten erwachsenen Patienten sprechen am besten bei Tobramycin-Konzentrationen zwischen 6 und 10 µg/ml (Talkonzentrationen zwischen 0,5 und 2,0 µg/ml) auf die Behandlung an.⁵ In der Literatur werden verschiedene therapeutische Bereiche für Tobramycin angegeben.^{6,7}

Einschränkungen

- Die Häufigkeit von Patienten mit Antikörpern gegen E.-coli-β-Galaktosidase ist extrem gering. Allerdings kann es bei manchen Proben mit solchen Antikörpern zu falsch hohen Werten kommen, die nicht dem klinischen Bild entsprechen.
- Kanamycin A (> 10 %), Kanamycin B (> 100 %), und Dideoxykanamycin (> 100 %) zeigen eine signifikante Interferenz mit dem CEDIA Tobramycin II Assay.
- Wie bei jedem Assay auf der Grundlage von Maus-Antikörpern besteht die Möglichkeit einer Störung durch humane Anti-Maus-Antikörper (HAMA) in der Probe, was zu falsch hohen Ergebnissen führen kann.

Spezifische Leistungsdaten

Typische, mit dem Hitachi 704 Analysegerät erhaltene Leistungsdaten sind unten aufgeführt.⁸ Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse von diesen Daten.

Präzision

Kontrollseren und gepooltes Humanserum wurden unter Anwendung der modifizierten amerikanischen NCCLS-Richtlinien für Experiment-Replikationen mit einem Hitachi-Analysegerät auf Präzision untersucht. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

	Intratestlaufpräzision			Gesamtpräzision		
	n	20	20	53	53	53
\bar{x} (µg/ml)	1,80	5,06	9,12	1,95	5,32	9,54
SD (µg/ml)	0,09	0,10	0,12	0,12	0,19	0,30
CV %	5,0	2,0	1,3	6,2	3,6	3,1

Methodenvergleich

Ein Vergleich des CEDIA Tobramycin II Assays (y) mit einem kommerziell erhältlichen Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay (x) ergab folgende Korrelation (µg/ml):

$$\begin{aligned} \text{Lineare Regression} \\ y &= -0,01 + 0,989x \\ r &= 0,993 \end{aligned}$$

Anzahl der gemessenen Proben: 102

Linearität

Eine Probe hoher Konzentration wurde mit dem Antibiotic TDM Low-Kalibrator verdünnt. Der Quotient aus Messwert und Erwartungswert ergab die Wiederfindungsrate (Recovery) in Prozent.

% High Range-Probe	Erwarteter Wert (µg/ml)	Gemessener Wert (µg/ml)	% Wiederfindung
100	-	11,7	-
75	8,8	9,1	104
50	5,9	6,2	106
25	2,9	3,0	103

Wiederfindung

Eine künstlich mit Tobramycin angereicherte Patientenprobe mit einer hohen Konzentration wurde einer niedrigkonzentrierten Patientenprobe beigefügt. Der Quotient aus Messwert und Erwartungswert ergab die Wiederfindungsrate in Prozent.

% High Range-Probe	Erwarteter Wert (µg/ml)	Gemessener Wert (µg/ml)	% Wiederfindung
100	-	10,1	-
75	7,6	7,7	101
50	5,1	5,1	101
25	2,6	2,5	96

Spezifität

Der CEDIA Tobramycin II Assay hat eine hohe Spezifität und zeigt eine sehr geringe Kreuzreaktivität mit Substanzen ähnlicher Struktur bzw. gleichzeitig verabreichten Medikamenten. Für folgende Verbindungen ist die Kreuzreaktivität klinisch nicht signifikant (< 0,3 %):

Verbindung	Verbindung	Verbindung
5-Fluorocytosin	Ethacrynsäure	Rifampin
Amikacin	Furosemid	Sisomicin
Amphotericin	Fusidinsäure	Spectinomycin
Ampicillin	Gentamicin	Streptomycin
Carbencillin	Lincomycin	Sulfadiazin
Cefamandol-Nafat	Methicillin	Sulfamethoxazol
Cephalexin	Methotrexat	Sulfanilamid
Cephaloglycin	Methylprednisolon	Sulthiame
Cephaloridin	Neomycin	Tetracyclin
Cephalosporin C	Netilmicin	Ticarcillin
Cephalothin	Oxytetracyclin	Trimethoprim
Chloramphenicol	Penicillin G	Vancomycin
Clindamycin	Penicillin V	
Erythromycin	Prednisolon	

Mit folgenden Substanzen wurde keine Interferenz im CEDIA Tobramycin-Assay festgestellt:

Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
Bilirubin	≤ 60 mg/dl	IgG	≤ 4900 mg/dl
Gesamteiweiß	≤ 13,2 g/dl	IgM	≤ 900 mg/dl
Hämoglobin	≤ 1000 mg/dl	Rheumafaktor	≤ 1200 IU/ml
IgA	≤ 2700 mg/dl	Triglyzeride	≤ 1000 mg/dl

Sensitivität

Die untere Nachweisgrenze des CEDIA Tobramycin-II Assays liegt bei 0,24 µg/ml (0,51 µmol/l).

Literatur

- Le Goffic F, Capmav ML, Tangy F, Baillarge M. Mechanism of Action of Aminoglycoside Antibiotics. Binding Studies of Tobramycin and Its 6'-N-acetyl derivatives to the Bacterial Ribosome and its Subunits. Eur. J. Biochem. 1979;102, 73-81.
- Sande MA, Mandell GL. Antimicrobial Agents, The Aminoglycosides. In: Gilman, A.G. Goodman, L.S. and Gilman, A. eds. The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan Publishing Company, 1980:1162-1180.
- Henderson DR, Friedman SF, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. Clin. Chem. 1986; 32(9): 1637-1641.
- Daten über Nachweisbarkeit können bei Microgenics Corporation angefordert werden, teil von Thermo Fisher Scientific.
- Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 1990, 3rd edition, pp. 805-807.
- Dipersio JR. Gentamicin and Other Aminoglycosides. In: Pesce AJ, Kaplan LA, eds. Methods in Clinical Chemistry, C.V. Mosby Co., 1987.
- Lew M. Interpretation of Aminoglycoside Serum Levels. Hosp. Pharm. 1979; 14: 465-472.
- Daten können bei Microgenics Corporation angefordert werden, teil von Thermo Fisher Scientific.

Glossar:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundendienst und technischer
Support für die USA:
1-800-232-3342



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



Aktualisierte Packungsbeilagen finden Sie unter:
www.thermofisher.com/diagnostics

Andere Länder:

Wenden Sie sich bitte an die zuständige Vertretung von Thermo Fisher Scientific.

10003771-8-DE
2019 07

thermo
scientific