

IVD Pour usage diagnostique in vitro

Rx Only

REF 100018 (Coffret de 13 mL, 11 mL)

Application

Le CEDIA™ Tobramycin II Assay est un dispositif médical de diagnostic in vitro permettant la détermination quantitative de tobramycine dans du sérum ou du plasma humain.

Résumé et description du test

La tobramycine est un antibiotique aminoglycoside utilisé dans le traitement des infections causées par *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* esp., *E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* et d'autres micro-organismes. L'effet toxique de la tobramycine est produit par interférence avec la synthèse des protéines ribosomales.¹ La tobramycine subit très peu de métabolisation, s'il en est, et est donc éliminée sous forme de molécule mère par filtration glomérulaire.

La plage thérapeutique doit être mesurée aux concentrations maximale et minimale. Il est recommandé d'utiliser des concentrations sériques ou plasmatiques de tobramycine maximales pour s'assurer d'obtenir une activité antimicrobienne suffisante. Les concentrations de tobramycine minimales assurent que l'élimination du médicament est adéquate et que sa concentration est supérieure à la concentration inhibitrice minimum. La concentration sérique ou plasmatique de tobramycine est fonction de son mode d'administration, du volume de liquide extracellulaire, de la durée du traitement et des modifications physiologiques pendant la maladie et le traitement. Il est donc essentiel de contrôler les taux sériques ou plasmatiques de tobramycine maximaux et minimaux pour la prévention de ces complications graves en ajustant la posologie comme il se doit.²

Le CEDIA Tobramycin II Assay utilise la technologie de l'ADN recombinant (brevet américain n° 4708929) pour produire une méthode immuno-enzymatique en phase homogène unique.³

Ce test utilise l'enzyme bactérienne β -galactosidase scindée en deux fragments inactifs par génie génétique pour produire une enzyme accepteur (EA) et une enzyme donneur (ED). Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie.

Au cours du test, l'analyte contenu dans l'échantillon entre en compétition avec l'analyte conjugué à un des fragments inactifs de la β -galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des anticorps. Si l'analyte est présent dans l'échantillon, il se lie aux anticorps, laissant ainsi les fragments inactifs de l'enzyme former une enzyme active. Si l'échantillon ne contient pas d'analyte, les anticorps se lient à l'analyte conjugué au fragment inactif, prévenant la réassociation des fragments inactifs de β -galactosidase, ce qui empêche la formation d'une enzyme active. La quantité d'enzyme active formée et la modification de l'absorbance correspondante sont directement proportionnelles à la quantité de drogue dans l'échantillon.⁵

Réactifs

- 1 Tampon de reconstitution EA** : contient acide 3-(n-morpholino) propane sulfonique, sels tampons, surfactant et conservateur (13 mL).
- 1a Réactif EA** : contient 0,22 g/L d'EA, 25,5 mg/L d'anticorps monoclonaux anti-tobramycine, protéine porteuse, sels tampons, stabilisant et conservateur.
- 2 Tampon de reconstitution ED** : contient acide 3-(n-morpholino) propane sulfonique, sels tampons, surfactant et conservateur (11 mL).
- 2a Réactif ED** : contient 23,4 μ g/L d'ED conjugué à la tobramycine, 2,4 g/L de chlorophénol rouge- β -D-galactopyranoside, 3,3 g/L d'anticorps de chèvre anti-souris, sels tampons, stabilisant et conservateur.

Matériel supplémentaire requis (vendu individuellement) :

REF	Description du coffret
100017	Calibrateur CEDIA TDM Multi-Cal Antibiotique

Contrôles disponibles dans le commerce - Consulter le service technique Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific pour des recommandations

⚠ Avertissements et mises en garde

DANGER : les réactifs contiennent $\leq 35\%$ d'antisérums IgG (chèvre), $\leq 21\%$ d'albumine bovine (AB), $\leq 5\%$ de phosphate de sodium, monobasique, 5% de phosphate de sodium, dibasique, anhydre, $\leq 0,6\%$ d'azote de sodium et $\leq 0,2\%$ d'anticorps spécifiques au médicament. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. Rincer abondamment les zones touchées avec de l'eau. En cas de projection dans l'œil ou d'ingestion, consulter immédiatement un médecin. L'azote de sodium peut réagir au contact des canalisations en plomb ou en cuivre et entraîner la formation d'azotures métalliques potentiellement explosifs. Lors de leur élimination, ces réactifs doivent être abondamment rincés à l'eau pour éviter toute accumulation d'azote. Nettoyer les surfaces métalliques exposées avec de l'hydroxyde de sodium à 10% .

H315 - Provoque des irritations cutanées.

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

H319 - Provoque une sévère irritation des yeux.

H334 - Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

EUH032 - Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Éviter de respirer les gaz ou vapeurs. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Lorsque la ventilation du local est insuffisante, porter un équipement de protection respiratoire. En cas de contact avec la peau : laver abondamment à l'eau et au savon. EN CAS D'INHALATION : s'il y a difficulté à respirer, transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Éliminer le contenu/contenant dans un endroit conforme aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Préparation et conservation des réactifs

Voir ci-dessous la préparation des solutions pour les analyseurs Hitachi. Pour tous les autres analyseurs, se référer à la fiche technique spécifique de chaque appareil.

Sortir le coffret du réfrigérateur immédiatement avant la préparation des solutions.

Préparer les solutions dans l'ordre ci-dessous afin de minimiser les risques de contamination.

Solution ED R2 : relier le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) à l'aide de l'un des raccords fournis. Mélanger en retournant doucement le flacon et veiller à ce que le lyophilisat du flacon 2a soit entièrement transvasé dans le flacon 2. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 2 le flacon 2a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 2 et le laisser reposer pendant environ 5 minutes entre 15 et 25°C . Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon. Placer le flacon directement dans le compartiment des réactifs de l'analyseur ou dans le réfrigérateur et laisser reposer 30 minutes avant usage.

Solution EA R1 : relier le flacon 1a (réactif EA) au flacon 1 (tampon de reconstitution EA) à l'aide de l'un des adaptateurs fournis. Mélanger en retournant doucement le flacon et veiller à ce que le lyophilisat du flacon 1a soit entièrement transvasé dans le flacon 1. Éviter la formation de mousse. Détacher du flacon 1 le flacon 1a et le raccord, et les jeter. Reboucher le flacon 1 et le laisser reposer pendant environ 5 minutes entre 15 et 25°C . Mélanger à nouveau. Inscrire la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon. Placer le flacon directement dans le compartiment des réactifs de l'analyseur ou dans le réfrigérateur et laisser reposer 30 minutes avant usage.

REMARQUE 1 : les composants contenus dans ce coffret doivent être utilisés ensemble. Ne pas mélanger de composants provenant de lots différents.

REMARQUE 2 : veiller à ne pas intervertir les bouchons des flacons de réactifs pour éviter toute contamination croisée des réactifs. La solution R2 (ED) doit être jaune orangé. Une couleur rouge sombre ou rouge violacé signifie que le réactif est contaminé et doit être jeté.

REMARQUE 3 : les solutions R1 et R2 doivent être amenées à la température du compartiment de stockage de l'analyseur avant de procéder au test. Se référer à la fiche technique spécifique de l'analyseur pour toute information complémentaire.

REMARQUE 4 : pour assurer la stabilité de la solution EA reconstituée, ne pas l'exposer de façon permanente et prolongée à une lumière vive.

Conserver les réactifs entre 2 et 8°C . **NE PAS CONGELER**. Pour la stabilité des composants non ouverts, se référer à la date de péremption figurant sur l'étiquetage du coffret ou des flacons.

Solution R1 : 30 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C .

Solution R2 : 30 jours réfrigérée dans l'analyseur ou entre 2 et 8°C .

Prélèvement et manipulation des échantillons

Des échantillons de sérum ou de plasma (sur héparine Na ou Li, ou EDTA Na) peuvent être utilisés pour ce test. Ne pas faire mousser l'échantillon et éviter des cycles répétés de congélation-décongélation afin de préserver le bon état de l'échantillon entre son prélèvement et son analyse. Centrifuger les échantillons contenant des matières particulières. Boucher les tubes d'échantillon, les conserver entre 2 et 8°C et les analyser dans la semaine suivant leur prélèvement. S'il n'est pas possible de réaliser l'analyse dans la semaine suivante ou si l'échantillon doit être expédié, boucher le tube et le conserver congelé. Conserver les échantillons à -20°C et les analyser dans les 4 semaines suivantes. Manipuler tous les échantillons patients comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

Procédure du test

Pour réaliser ce test, on peut utiliser un analyseur chimique capable de maintenir une température constante, de prélever des échantillons à la pipette, de mélanger des réactifs, de mesurer des taux enzymatiques et d'assurer le minutage de la réaction. Des fiches techniques indiquant les paramètres spécifiques des instruments sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

REMARQUE : si l'analyseur ne lit pas les code-barres, on peut entrer la séquence numérique sur l'étiquette à code-barres au moyen du clavier.

Contrôle qualité et calibration⁴

Il est recommandé de faire une calibration à deux points :

- après un changement de flacon de réactif ;
- après un changement de lot de réactifs ;
- selon les besoins après des opérations de contrôle qualité.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent d'analyser au moins deux niveaux de contrôles qualité (correspondant aux critères de décision médicale supérieur et inférieur) chaque jour où des échantillons patients sont testés et chaque fois qu'une calibration est effectuée. Surveiller les valeurs des contrôles pour détecter toutes tendances ou changements. Si des tendances ou changements sont détectés ou si le contrôle ne tombe pas dans les limites prévues, examiner tous les paramètres d'utilisation. Pour plus de renseignements, s'adresser au service technique Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux ou aux conditions d'agrément.

Résultats et valeurs attendues

Le CEDIA Tobramycin II Assay est conçu pour quantifier les échantillons patients se situant entre 0,24 µg/mL et la valeur du Calibrateur de concentration élevée TDM Antibiotique (12 µg/mL). Les échantillons donnant des valeurs inférieures à 0,24 µg/mL doivent être mentionnés comme étant < 0,24 µg/mL. Les échantillons donnant des valeurs supérieures à 12 µg/mL doivent être mentionnés comme étant > 12 µg/mL ou dilués à raison d'une part échantillon pour une part de Calibrateur de concentration faible TDM Antibiotique et analysés à nouveau. La valeur obtenue au cours du deuxième test doit être calculée de la façon suivante:

Valeur réelle = (2 x la valeur diluée) - la concentration du Calibrateur de concentration faible TDM Antibiotique

Utiliser le facteur de conversion suivant pour convertir des µg/mL en µmol/L :

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

L'efficacité thérapeutique et les effets toxiques sont étroitement liés à la concentration sérique du médicament. Chez la plupart des adultes, on obtient une réponse thérapeutique maximale avec des concentrations de tobramycine entre 6 et 10 µg/mL et des concentrations minimales entre 0,5 et 2,0 µg/mL.⁵ D'autres plages thérapeutiques de tobramycine ont également été signalées par d'autres investigateurs.^{6,7}

Limitations

- L'incidence de patients présentant des anticorps dirigés contre la β-galactosidase de E. coli est extrêmement faible. Toutefois, certains échantillons contenant de tels anticorps peuvent entraîner des résultats artificiellement élevés qui ne correspondent pas au profil clinique.
- La kanamycine A (> 10%), la kanamycine B (> 100%) et la didéoxykanamycine (> 100%) démontrent une interférence significative avec le CEDIA Tobramycin II Assay.
- Comme avec tout test utilisant des anticorps murins, il existe une possibilité d'interférence par des anticorps humains antimurins (HAMA) présents dans l'échantillon, susceptibles d'engendrer des résultats faussement élevés.

Performances spécifiques

Des résultats de performance caractéristiques obtenus avec un analyseur Hitachi 704 sont indiqués ci-dessous.⁸ Les résultats obtenus dans un laboratoire peuvent être différents de ces données.

Précision

Des contrôles sériques et des pools de sérum humain ont été analysés pour vérifier la précision sur un analyseur Hitachi en observant les directives du protocole de réplication modifié du NCCLS. Les résultats suivants ont été obtenus :

	Précision dans la Série			Précision Totale		
	n	20	20	20	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

Comparaison méthodologique

Une étude comparant le CEDIA Tobramycin II Assay (y) et un test immunologique par polarisation de fluorescence disponible dans le commerce (x) a donné la corrélation suivante (µg/mL) :

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

Nombre d'échantillons mesurés : 102

Linéarité

Un échantillon à concentration élevée a été dilué avec le Calibrateur de concentration faible TDM Antibiotique. Le pourcentage de détection a été ensuite déterminé en divisant la valeur obtenue par la valeur attendue.

% Échantillon à concentration élevée	Valeur attendue (µg/mL)	Valeur obtenue (µg/mL)	% Récupération
100	-	11,7	-
75	8,8	9,1	104
50	5,9	6,2	106
25	2,9	3,0	103

Détection

De la tobramycine sous forme d'un échantillon patient à concentration élevée (ensemencé) a été ajoutée à un échantillon patient à concentration faible. Le pourcentage de détection a été ensuite déterminé en divisant la valeur obtenue par la valeur attendue.

% Échantillon à concentration élevée	Valeur attendue (µg/mL)	Valeur trouvée (µg/mL)	% Récupération
100	-	10,1	-
75	7,6	7,7	101
50	5,1	5,1	101
25	2,6	2,5	96

Spécificité

Le CEDIA Tobramycin II Assay est très spécifique, montrant une très faible réactivité croisée aux substances de même structure ou aux médicaments co-administrés. La réactivité croisée est cliniquement non significative (< 0,3 %) pour les composés suivants.

Composé	Composé	Composé
5-fluorocytosine	Acide éthacrynique	Rifampine
Amikacine	Furosémide	Sisomicine
Amphotéricine	Acide fusidique	Spectinomycine
Ampicilline	Gentamicine	Streptomycine
Carbénicilline	Lincomycine	Sulfadiazine
Nafate de céfamandole	Méthicilline	Sulfaméthoxazole
Céphalexine	Méthotrexate	Sulfanilamide
Céphaloglycine	Méthylprednisolone	Sulthiame
Céphaloridine	Néomycine	Tétracycline
Céphalosporine C	Nétilmicine	Ticarcline
Céphalothine	Oxytétracycline	Triméthoprim
Chloramphénicol	Pénicilline G	Vancomycine
Clindamycine	Pénicilline V	
Érythromycine	Prednisolone	

Les substances suivantes n'ont mis en évidence aucune interférence avec le CEDIA Tobramycin II Assay :

Composé	Concentration	Composé	Concentration
Bilirubine	≤ 60 mg/dL	IgG	≤ 4900 mg/dL
Facteur rhumatoïde	≤ 1200 IU/mL	IgM	≤ 900 mg/dL
Hémoglobine	≤ 1000 mg/dL	Protéines totales	≤ 13,2 g/dL
IgA	≤ 2700 mg/dL	Triglycérides	≤ 1000 mg/dL

Sensibilité

La concentration minimum détectable du CEDIA Tobramycin II Assay est de 0,24 µg/mL (0,51 µmol/L)

Bibliographie

- 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.
- Les données de traçabilité sont conservées par Microgenics Corporation, une division de 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.
- Données conservées par Microgenics Corporation, une division de Thermo Fisher Scientific.

Glossaire :

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 États-Unis
Soutien technique et à la clientèle,
États-Unis :
1-800-232-3342



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



Pour des mises à jour de la notice, consulter:
www.thermofisher.com/diagnostics

Autres pays :

Contactez le représentant local Thermo Fisher Scientific.

10003771-8-FR
2019 07

thermo
scientific