

IVD Zur In-vitro-Diagnostik

Rx Only

REF 100147

Anwendungsbereich

Durch die quantitative In-vitro-Bestimmung von Cyclosporin in humanem Vollblut mittels Laborautomaten unterstützt der CEDIA® Cyclosporin PLUS Assay die Cyclosporinbehandlung nach Nieren-, Leber- und Herztransplantationen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Cyclosporin ist ein hydrophobes zyklisches Undecapeptid fungalen Ursprungs mit immunsuppressiven Eigenschaften.^{1,2} Der Wirkmechanismus ist zwar noch nicht vollständig aufgeklärt, Cyclosporin scheint jedoch den Metabolismus der T-Helferzellen und T-Suppressorzellen zu beeinflussen, was zu einer Einschränkung der Immunantwort führt.^{3,5} Durch seine immunsuppressive Wirkung stellt Cyclosporin ein hochwirksames Medikament in der Behandlung bestimmter Autoimmunerkrankungen dar und verringert die Häufigkeit von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantation. Der optimale Sicherheits- und Wirksamkeitsbereich des Cyclosporins ist relativ schmal und das Medikament kann zu einer Reihe von Nebenwirkungen führen.^{6,7} Die schwerwiegendsten Nebenwirkungen sind Organabstoßung auf Grund unzureichender Dosierung gefolgt von Nephrotoxizität und Hepatotoxizität, die unter steigender Dosierung des Medikaments verstärkt auftreten.⁸⁻¹¹ Cyclosporin wird oral oder intravenös verabreicht. Da Resorption und Lebermetabolismus des Medikaments sehr stark vom einzelnen Patienten abhängen, besteht zwischen Plasmaspiegel und Dosierung keine gute Korrelation.¹² Zu den Faktoren, die sich auf die Plasmakonzentration des Cyclosporins auswirken, gehören u.a. Art der Transplantation, Alter und allgemeiner Gesundheitszustand des Patienten sowie die Begleitmedikation mit Substanzen wie Carbamazepin, Phenytoin, Phenobarbital, Erythromycin, Rifampicin, Cimetidin und Ketoconazol.¹³⁻¹⁷ Für eine optimale Immunsuppression nach Organtransplantation muss der Cyclosporinspiegel des Patienten unbedingt überwacht werden.¹⁸⁻²⁰

Zusammen mit den anderen laborchemischen Parametern und dem klinischen Bild stellt die Bestimmung des Cyclosporinspiegels den besten Lösungsansatz dar, die unerwünschten Nebenwirkungen nach Organtransplantation zu minimieren und die Immunsuppression zu optimieren.

Der CEDIA Cyclosporin PLUS Assay stützt sich auf rekombinante DNA-Technologie (US-Patentnr. 4708929), die ein besonders homogenes Enzym-Immunoassaysystem liefert.²¹ Der Assay beruht auf dem bakteriellen Enzym β -Galaktosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente zerlegt wurde. Diese Fragmente verbinden sich spontan wieder unter Bildung des voll wirksamen 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 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 Analyt, 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 Analytkonzentration in der Probe proportional.

Reagenzien

- EA-Rekonstitutionspuffer:** Enthält MOPS [3-(N-Morpholin) propansulfonsäure-Puffer], 0,50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ monoklonale Anti-Cyclosporin-Antikörper (Maus), Stabilisator und Konservierungsmittel, 1 x 41 mL.
- 1a EA-Reagens:** Enthält 0,171 g/L (mikrobiellen) Enzym-Akzeptor, Puffersalze und Konservierungsmittel, 1 x 41 mL.
- ED-Rekonstitutionspuffer:** Enthält MES [2-(N-Morpholin) ethansulfonsäure-Puffer], Detergens und Konservierungsmittel, 1 x 19 mL.
- 2a ED-Reagens:** Enthält 52 $\mu\text{g}/\text{L}$ (mikrobiellen) Enzym-Donor, der an Cyclosporin konjugiert ist, 2,73 g/L Chlorphenolrot- β -D-galaktopyranosid, Stabilisatoren und Konservierungsmittel, 1 x 19 mL.
- 3 Lysereagens:** Enthält Puffersalze, Detergenzien und Konservierungsmittel 1 x 98 mL.
- 4 Low-Range A Kalibrator:** Enthält 0,45 g BSA und 0,063 μg Cyclosporin A.
- 5 Low-Range B Kalibrator:** Enthält 0,45 g BSA und 1,125 μg Cyclosporin A.

Zusätzliche Materialien:

Zwei (2) leere 20 ml-Analysegerätfaschen.

Zusätzlich benötigte Materialien (separat verkauft):

REF	Beschreibung des Kits
100012	CEDIA Cyclosporin PLUS High-Range-Kalibratorkit

Laborautomat für die klinische Chemie
Handelsübliche Kontrolle(n). Der technische Support von Thermo Fisher Scientific kann Ihnen geeignete Kontrollen empfehlen.

⚠ Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen

Es gelten die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen für den Umgang mit Laborreagenzien.

GEFAHR: EA-Pulverreagens enthält ≤ 1 Gew. % Natriumazid. ED-Pulverreagens enthält ≤ 55 Gew. % Rinderserumalbumin (BSA). EARB-Lyseflüssigreagens enthält 0,75 % Rinderserum (fötal), $<0,1$ % CSA Antikörper (Maus, monoklonal) und $<0,13$ % Natriumazid. EDRB- und Lyseflüssigreagenzien enthalten $<0,13$ % Natriumazid. Die Kalibratoren enthalten 18 % Rinderserumalbumin (BSA) und $\leq 0,13$ % Natriumazid.

H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 - Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

EUHQ32 - Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Staub/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. 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: Giftnformationszentrum 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 Assay-Parameter finden Sie im Anwendungsblatt des jeweiligen Instruments. Die folgenden Lösungen unter Verwendung von kalten Reagenzien und Puffern zubereiten. Das Kit erst unmittelbar vor der Zubereitung der Arbeitslösungen aus dem Kühlschrank ($2 - 8^\circ\text{C}$) nehmen.

Falls Material versehentlich verschüttet wird, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.

Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe Rückseite dieser Packungsbeilage).

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 entsorgen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur ($15-25^\circ\text{C}$) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen sofort in das Reagenzienfach des Analysegerätes stellen oder kühl ($2-8^\circ\text{C}$) lagern und vor der Verwendung 15 Minuten stehen lassen.

R1 - Enzym-Akzeptor-Lösung: Fläschchen 1a (EA-Reagens) mittels eines der beigelegten Adapter mit dem 70-mL-Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) 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 vom Adapter abnehmen. Fläschchen 1a entsorgen.

Das gefüllte Fläschchen 1 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur ($15-25^\circ\text{C}$) stehen lassen. Erneut vorsichtig mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen sofort in das Reagenzienfach des Analysegerätes stellen oder kühl ($2-8^\circ\text{C}$) lagern. Das Reagens muss vor der Verwendung mindestens 15 Minuten im Analysegerät stehen.

Für den Fall, dass Ihr Analysegerät die 70 ml-Flasche (Flasche 1) nicht aufnehmen kann, wurden zwei (2) kleinere leere trapezförmige Flaschen beigelegt. Den Inhalt der großen Flasche 1 gleichmäßig auf die beiden kleineren Flaschen aufteilen.

Lysereagens: Das Lysereagens ist flüssig und muss nicht rekonstituiert werden. Vor jedem Einsatz den Inhalt des Fläschchens durch vorsichtiges zwei- bis dreimaliges Umdrehen mischen. Auf dem Fläschchenetikett das Datum vermerken, an dem das Lysereagens geöffnet wurde. Den Verschluss abnehmen und entsprechend dem zugehörigen CEDIA Cyclosporin PLUS Applikationsblatt das erforderliche Volumen des Lysereagens in ein Probengefäß geben.

Barcode-Verwendung: Die Barcodes auf den Reagenzflaschen gelten für den Assay für den unteren Bereich. Die Reagenzienetiketten sind mit einem speziellen System-Barcode versehen, der von den meisten Analysegeräten ignoriert wird, wenn er nicht erkannt wird. Wenn das Analysegerät einen Fehlercode ausgibt, decken Sie den Barcode mit einfarbigem Klebeband ab. Wenden Sie sich an den Kundendienst, wenn Sie Unterstützung benötigen.

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

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

HINWEIS 3: Die R1- und R2-Lösung muss vor Durchführung des Assays die Temperatur des Reagenzienfaches im Analysegerät erreichen. Zusätzliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

HINWEIS 4: Die Lösung R2 muss vor der Lösung R1 angesetzt werden.

HINWEIS 5: Vor längerer starker Lichteinwirkung schützen, um die Stabilität der rekonstituierten EA-Lösung zu gewährleisten.

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

R1-Lösung: 60 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8°C.

R2-Lösung: 60 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8°C.

Lysereagens: 60 Tage bei 2-30°C.

Kalibratoren: 60 Tage bei 2-8°C.

Probentnahme und -handhabung

Nur mit EDTA versetztes Vollblut verwenden.²² Darauf achten, dass die Probe vom Zeitpunkt ihrer Abnahme bis zur Durchführung des Assays unversehrt bleibt. Auf dem Probenetikett sollte die Uhrzeit der Blutabnahme sowie der Zeitpunkt der letzten Medikamentengabe vermerkt werden. Die Proben sind zu verschließen und bei Lagerung zwischen 2°C und 8°C innerhalb einer Woche bzw. bei -20°C innerhalb eines Monats zu analysieren. Keinesfalls wiederholt einfrieren und auftauen. Schaumbildung bei der Probenvorbereitung vermeiden.

Probenvorbereitung

1. Kalibratoren, Kontrollen und Patientenproben auf Raumtemperatur erwärmen lassen.
2. Die Probe (Kalibratoren, Kontrollen oder Patientenproben) vor Gebrauch behutsam, aber gründlich mischen.
3. Exakt 100 µL der Probe in ein Probengefäß pipettieren.
4. Mit einer Repetierpipette genau 400 µL des CEDIA Cyclosporin PLUS Lysereagens in jedes Probengefäß füllen.
5. Jedes Probengefäß sorgfältig 2-5 Sekunden lang mit einem Vortex-Mischer mischen.
6. Die Probengefäße in das Analysegerät stellen und die Messung durchführen.

Bei 15-25°C ist das Hämolystat im Probengefäß für etwa 1,5 Stunden stabil.²²

Der CEDIA Cyclosporin PLUS Assay ist zur Verwendung mit Laborautomaten für klinische Chemie konzipiert. Die Leistungsdaten der jeweiligen Anwendung können bei Microgenics Corporation, teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.²³

Durchführung des Assays

Informationen zu den Anwendungsparametern erhalten Sie vom Technischen Kundendienst von Thermo Fisher Scientific.

Kalibrierung

Mit den entsprechenden Kalibratoren des CEDIA Cyclosporin PLUS Kits liefert der CEDIA Cyclosporin PLUS Assay eine lineare Standardkurve. Die Software des Analysegerätes ermöglicht die Datenreduktion mit Hilfe der linearen Least-Squares-Regressionsmethode. Mittels handelsüblicher Kontrolle(n) mit bekanntem Wiederfindungsbereich für den CEDIA Cyclosporin PLUS Assay die Kalibrierung des Assays validieren.

HINWEIS: Jedem Kalibrator Kit liegen Kalibratorwerte-Zuordnungskarten bei. Vor Verwendung eines neuen Kalibrators müssen die klinisch-chemischen Laborparameter überprüft werden, damit die Kalibratorkonzentrationen auch den Werten auf den Wertezuordnungskarten entsprechen.

Kalibrierungshäufigkeit

Erneute Kalibrierung empfohlen

- Nach jedem Austausch des Reagensfläschchens.
- Bei einer neuen Kalibrator- oder Reagenscharge.
- Nach Durchführung der monatlichen Gerätewartung.
- Wie erforderlich nach Qualitätssicherungsmaßnahmen.

Ausgabebereich

Der Low-Range-Ausgabebereich des Assays liegt zwischen 25 ng/mL und 450 ng/mL. Die niedrigste vom CEDIA Cyclosporin PLUS Assay noch messbare Konzentration beträgt 25 ng/mL.

Der High-Range-Ausgabebereich des Assays liegt zwischen 450 ng/mL und 2000 ng/mL.

Proben außerhalb des Messbereichs

Proben, deren Konzentration größer als die des Cyclosporin PLUS High-Kalibrators ist, werden als > 2000 ng/mL ausgegeben oder im Verhältnis 1:1 mit cyclosporinfreiem Vollblut verdünnt, lysiert und dann erneut bestimmt. Wenn nur der Cyclosporin-Low-Range-Assay im Labor durchgeführt wird, können außerhalb des Messbereichs liegende Proben im Verhältnis 1:3 mit cyclosporinfreiem Vollblut verdünnt, lysiert und dann erneut untersucht werden.

1. Die Probe vor Verwendung schonend aber gründlich mischen.
2. Verdünnung durch Mischen von einem Teil Patientenprobe und einem Teil cyclosporinfreiem Vollblut ODER einem Teil Patientenprobe und drei Teilen cyclosporinfreiem Vollblut vorbereiten.
3. Mit einer Repetierpipette genau 400 µL des CEDIA Cyclosporin PLUS Lysereagens in jedes Probengefäß füllen.
4. Jedes Probengefäß 2-5 Sekunden mit einem Vortex-Mischer mischen.
5. Das (die) Probengefäß(e) in das Analysegerät stellen und die Messung wiederholen.

Der bei der Wiederholungsmessung erhaltene Wert leitet sich folgendermaßen ab:

Tatsächlicher Wert = Verdünnungsfaktor x Verdünnungswert

$$\text{Verdünnungsfaktor} = \frac{(\text{Probenvolumen} + \text{Volumen von cyclosporinfreiem Vollblut})}{\text{Probenvolumen}}$$

Probenwerte, die unter der noch messbaren Mindestkonzentration des Assays liegen, sollten als < 25 ng/mL ausgegeben werden.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung

Jedes Labor sollte selbst die Häufigkeit der Kontrollmessungen festlegen.

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 die Wiederfindung (Recovery) der Kontrolle nicht innerhalb des vorgeschriebenen Bereichs liegt, sind alle Betriebsparameter zu überprüfen. Für weitere Unterstützung und Empfehlungen hinsichtlich geeigneter Kontrollmaterialien steht der technische Kundendienst von Thermo Fisher Scientific zur Verfügung. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

HINWEIS: Bei einer neuen Reagenscharge sind die Zielwerte und -bereiche der Kontrollen neu zu bestimmen.

Ergebnisse und erwartete Werte

Detaillierte Angaben zur Berechnung finden sich im entsprechenden Bedienungshandbuch oder dem jeweiligen Analysegerät-Protokoll.

Einschränkungen²³

Die Leistung des CEDIA Cyclosporin PLUS Assays wurde nur für humanes EDTA-Vollblut und keine andere Körperflüssigkeit bestimmt.

Kriterium: Bei Spiegeln < 150 ng/mL beträgt die Wiederfindungsrate ±15 ng/mL vom Ursprungswert, und bei Spiegeln > 150 ng/mL beträgt der entsprechende Wiederfindungswert ±10%.

Ikterus: Keine signifikante Beeinflussung bis zu einem I-Index von 60 (ungefährer Spiegel des indirekten Bilirubins: 60 mg/dL).

Hyperlipidämie: Keine signifikante Beeinflussung durch Triglyzeridspiegel bis 1000 mg/dL. Keine signifikante Beeinflussung durch Cholesterinspiegel bis 300 mg/dL. Hohe Triglyzerid- und Cholesterinspiegel können zu niedrigen Werten führen.

Gesamteiweiß: < 10 g/dL keine Beeinflussung. Hohe Eiweißspiegel können zu niedrigen Werten führen.

Rheumafaktor: < 100 IE/mL keine Beeinflussung.

Hämatokritbereich: 30,5% bis 53,5%. Höhere Hämatokritwerte können zu niedrigen Werten führen. Bei Patienten mit akkumulierten Metaboliten, beispielsweise Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion, unerwartet hohen Medikamentenspiegeln oder längerem Zeitraum nach Therapieende, kann dieser Assay durch ein für die Stammverbindung hochspezifisches Verfahren wie die HPLC unterstützt werden.

Die Häufigkeit von Patienten mit Antikörpern gegen E. coli-β-Galaktosidase ist extrem gering. Allerdings kann es bei einigen Proben mit solchen Antikörpern zu falsch hohen Werten kommen, die jedoch nicht dem klinischen Bild entsprechen. Wenden Sie sich in einem solchen Fall an den technischen Kundendienst von Thermo Fisher Scientific.

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. Es ist darauf zu achten, dass die Blutabnahme zum jeweils gleichen Zeitpunkt nach der Cyclosporinabgabe erfolgt.

Erwartungswerte

Für Cyclosporin im Vollblut gibt es keinen scharf definierten therapeutischen Bereich. Die Komplexität des klinischen Zustands, die individuell unterschiedliche Empfindlichkeit auf die immunsuppressiven und nephrotoxischen Wirkungen des Cyclosporins, die Begleitgabe weiterer Immunsuppressiva, Art der Transplantation und seit der Transplantation verstrichene Zeit sowie eine Reihe anderer Faktoren bedingen unterschiedliche Anforderungen an einen optimalen Cyclosporin Spiegel. Änderungen im Behandlungsprotokoll dürfen sich nicht alleine an den individuellen Cyclosporin spiegeln orientieren. Jeder Patient muss sorgfältig klinisch untersucht werden, bevor Änderungen im Behandlungsprotokoll erfolgen, und jeder Benutzer muss aufgrund der eigenen klinischen Erfahrung den jeweiligen Bereich festlegen.²⁴ Der Konzentrationsbereich hängt vom verwendeten handelsüblichen Test ab. Zur Vorhersage von Werten individueller Patienten sollten keine Umrechnungsfaktoren verwendet werden. Für einen bestimmten Patienten sollte stets ein und derselbe Assay verwendet werden, da sonst unterschiedliche Kreuzreaktivitäten mit Metaboliten auftreten können.

Spezifische Leistungsdaten²³

Typische, mit dem Hitachi 911 Analysegerät erhaltene Leistungsdaten sind unten aufgeführt. Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse von diesen Daten. Weitere für das jeweilige Analysegerät spezifische Leistungsdaten sind dem Anwendungsprotokoll des betreffenden Analysegerätes zu entnehmen.

Präzision

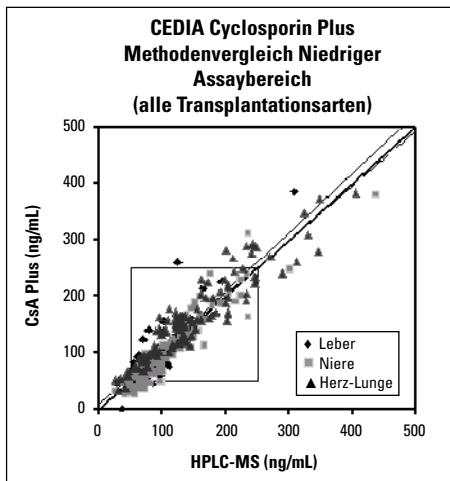
Präzisionsbestimmungen mit Fertigreagenzien, gepooltem Vollblut sowie Vollblutkontrollen erbrachten die folgenden Ergebnisse in ng/mL: NCCLS-modifiziertes Replikationsexperiment mit Analysegerät Hitachi 911 (37 °C), EP5-T (3 Replikate täglich über 21 Tage).

Low-Range-Assay			Innerhalb des Testlaufes		Insgesamt	
Probe	n	\bar{x}	SD	CV%	SD	CV%
CI	63	46,2	3,7	8,0	7,4	16,0
CII	63	199,7	5,9	2,9	9,1	4,6
Low-Pool	63	54	4,7	8,8	6,6	12,2
High-Pool	63	434,7	6,7	1,6	19,4	4,5

High-Range-Assay			Innerhalb des Testlaufes		Insgesamt	
Probe	n	\bar{x}	SD	CV%	SD	CV%
CIII	63	418	31,7	7,6	40,5	9,6
CIV	63	642	38,0	5,9	47,0	7,3
CV	63	1.257	49,9	4,0	63,9	5,1
Low-Pool	63	472	22,8	4,8	35,1	7,5
High-Pool	63	1.695	39,2	2,3	87,3	5,2

Methodenvergleich - Niedriger Assaybereich

Vergleiche zwischen dem CEDIA Cyclosporin PLUS Assay von Microgenics (y) und HPLC-MS (x) von vier Prüfzentren lieferten die folgende Korrelation.



CEDIA Cyclosporin PLUS - Niedriger Assaybereich

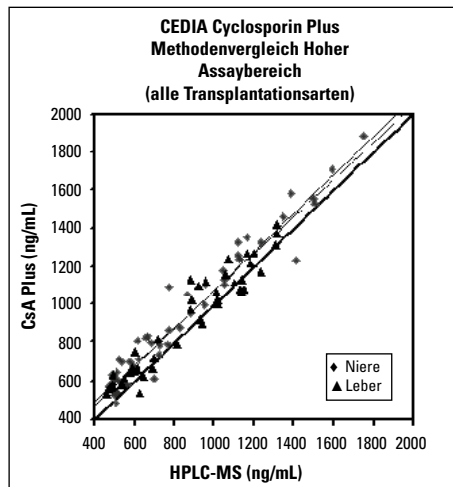
Vergleiche zwischen dem CEDIA Cyclosporin PLUS Assay von Microgenics (y) und FPIA (x), EMIT® (x) sowie HPLC-MS (x) von vier Prüfzentren lieferten die folgenden Korrelationen.

Transplantationsart	x-Achse	Lineare Regression $S_{y,x}$	Deming $S_{y,x}$	r	n	Bereich
Alle	HPLC-MS	$0,97x + 8$ 27	$1,05x - 2$ 27	0,93	311	25-386 ng/mL
Alle	EMIT	$1,05x + 6$ 16	$1,09x + 2$ 11	0,97	298	33-412 ng/mL
Alle	Axsym	$1,00x + 2$ 19	$1,05x - 5$ 13	0,95	296	35-368 ng/mL
Alle	TDx	$0,87x - 18$ 20	$0,91x - 25$ 15	0,95	298	9-386 ng/mL
Herz/Lunge	HPLC-MS	$0,87x + 32$ 26	$0,93x + 24$ 26	0,94	109	31-383 ng/mL
Leber	HPLC-MS	$1,10x + 0,9$ 25	$1,30x - 18$ 26	0,88	80	41-386 ng/mL
Niere	HPLC-MS	$1,02x - 9$ 24	$1,09x - 17$ 16	0,94	122	25-379 ng/mL

Der Vergleich zwischen der Low-Range-Assaymethodik und der HPLC-MS-Population umfasste: 311 Proben von Patienten zwischen 18 und 77 Jahren. Es handelte sich um 107 akute, 195 chronische, 109 Herz-Lungen-, 80 Leber- und 122 Nierentransplantationsproben von 228 Patienten, die im Talspiegel abgenommen wurden.

Methodenvergleich - Hoher Assaybereich

Vergleiche zwischen dem CEDIA Cyclosporin PLUS Assay von Microgenics (y) und HPLC-MS (x) lieferten die folgende Korrelation.



CEDIA Cyclosporin PLUS - Hoher Assaybereich

Vergleiche zwischen dem CEDIA Cyclosporin PLUS Assay von Microgenics (y) und FPIA (x), EMIT® (x) sowie HPLC-MS (x) von vier Prüfzentren lieferten die folgenden Korrelationen.

Transplantationsart	x-Achse	Lineare Regression $S_{y,x}$	Deming $S_{y,x}$	r	n	Bereich
Alle	HPLC-MS	$0,97x + 98$ 81	$1,01x + 71$ 57	0,97	93	486-1882 ng/mL
Alle	EMIT	$1,00x + 12$ 28	$1,00x + 11$ 20	0,99	343	12-1979 ng/mL
Alle	Axsym	$1,04x - 2$ 30	$1,05x - 4$ 21	0,99	344	3-1857 ng/mL
Alle	TDx	$0,96x - 33$ 36	$0,97x - 35$ 26	0,99	334	15-1932 ng/mL
Leber	HPLC-MS	$0,94x + 99$ 73	$0,98x + 70$ 52	0,96	46	529-1417 ng/mL
Niere	HPLC-MS	$0,99x + 107$ 82	$1,02x + 84$ 58	0,97	47	486-1882 ng/mL

Der Vergleich zwischen der High-Range-Assaymethodik für den oberen Messbereich und der HPLC-MS-Population umfasste: 93 Proben von Patienten zwischen 30 und 72 Jahren. Es handelte sich um 83 akute, 8 chronische, 46 Leber- und 47 Nierentransplantationsproben von 21 Patienten, deren Blut innerhalb von 8 Stunden nach Cyclosporinabgabe abgenommen wurde.

Linearität

Für die Beurteilung der Low-Range-Linearität wurde ein Patientenpool mit hohem Cyclosporin Spiegel mit einer medikamentfreien Vollblutprobe verdünnt, während für den High-Range-Assay ein Cyclosporin-Patientenpool zur Verdünnung verwendet wurde. Der Quotient aus Messwert und Erwartungswert ergab die Wiederfindungsrate in Prozent. Die Erwartungswerte ergaben sich aus Steigung und Achsenabschnitt der Regressionsgeraden für die Messwerte.

% High Range-Probe	Niedriger Assaybereich			Hoher Assaybereich		
	Erwartungswert Wert (ng/mL)	Gemessener Wert (ng/mL)	% Wiederfindung	Erwartungswert Wert (ng/mL)	Gemessener Wert (ng/mL)	% Wiederfindung
100,0	433	433	100,0	1.930	1.930	100,0
90,0	390	386	99,1	1.782	1.785	100,2
80,0	347	332	95,5	1.633	1.708	104,6
70,0	304	298	97,9	1.485	1.573	105,9
60,0	261	263	100,6	1.337	1.361	101,8
50,0	218	222	101,6	1.189	1.244	104,7
40,0	176	184	104,6	1.040	1.028	98,8
30,0	133	129	97	892	906	101,6
20,0	90	89	99,1	744	775	104,2
10,0	47	47	99,7	595	599	100,6
0,0	4	4	100,0	447	447	100,0

Wiederfindung (Recovery)

Zur Beurteilung der Wiederfindungsrate dieses Assays wurden 21 normale Vollblutproben mit Cyclosporin versetzt. Für jeden der 21 Probensätze erfolgte die Spike-Zugabe des Cyclosporins entsprechend der Tabelle. Die prozentuale Wiederfindungsrate ergab sich als Quotient aus der mittleren Dosis jedes der 21 Spike-Probensätze geteilt durch die theoretische Menge des den Proben zugesetzten Cyclosporins.

Niedriger Assaybereich			Hoher Assaybereich		
N	21	21	N	21	21
Ziel, ng/mL	150	300	Ziel, ng/mL	600	1.600
x (ng/mL)	141	308	x (ng/mL)	590	1.570
% Wiederfindung	94	103	% Wiederfindung	98	98

Spezifität

Die folgenden Substanzen wurden auf mögliche Kreuzreaktivität mit dem CEDIA Cyclosporin PLUS Assay getestet; hierzu wurden Vollblutproben in vitro mit etwa 200 ng/mL Cyclosporin versetzt.

Verbindung	Untersuchte Konzentration (ng/mL)	% Kreuzreaktivität
AM 1	1.000	4,4
AM 9	1.000	20
AM 4n	1.000	16
AM 19	1.000	0,9
AM 4N9	1.000	1,0
AM 1c	1.000	1,6

Verbindung	Untersuchte Konzentration (ng/mL)	Beobachtete Dosis (ng/mL)	% Kreuzreaktivität
Acetaminophen-	100.000	-0,2	< 0,015
Amikacinsulfat-	100.000	-0,7	< 0,015
Ampicilin-	100.000	0,4	< 0,015
Azathioprin-	100.000	-5,2	< 0,015
Carbamazepin-	100.000	-2,8	< 0,015
Chloramphenicol-	100.000	-1,3	< 0,015
Chinidinsulfat	100.000	-1,6	< 0,015
Cimetidin	100.000	1,7	< 0,015
Digitoxin	100.000	-1,2	< 0,015
Digoxin	100.000	-1,4	< 0,015
Dipyridamol	100.000	-4,1	< 0,015
Disopyramid	100.000	-3,3	< 0,015
Erythromycin-	100.000	-2,8	< 0,015
FK506	20.000	3,8	< 0,075
Furosemid	100.000	-4,2	< 0,015
Gentamicin	100.000	-1,1	< 0,015
Kanamycin	100.000	0,1	< 0,015
Kanamycinsulfat B	100.000	0,7	< 0,015
Ketoconazol	100.000	-0,9	< 0,015
Lidocain	100.000	-1,6	< 0,015
Methylprednisolon	100.000	-0,6	< 0,015
Morphinsulfat	100.000	-5	< 0,015
Mycophenolsäure	50.000	-4,7	< 0,030
N-Acetylprocainamid	100.000	-1,3	< 0,015
Penicillin G (Benzylpenicillin-Natrium)	100.000	-0,8	< 0,015
Phenobarbital	100.000	-10,1	< 0,015
Phenytoin	100.000	-3,1	< 0,015
Prazosin	100.000	-0,7	< 0,015
Prednisolon	100.000	-2,4	< 0,015
Prednison	100.000	-0,8	< 0,015
Procainamid-HCL	100.000	-2,8	< 0,015
Rapamycin	5.000	-4,8	< 0,300
Rifampicin	60.000	-7,3	< 0,025
Salicylsäure	100.000	-0,7	< 0,015
Spectinomycin	100.000	-0,5	< 0,015
Streptomycinsulfat	100.000	1,1	< 0,015
Theophyllin	100.000	0,2	< 0,015
Tobramycin	100.000	0,2	< 0,015
Triamteren	100.000	-1,6	< 0,015
Valproinsäure	100.000	-1,3	< 0,015
Vancomycin-HCL	100.000	0	< 0,015
Verapamil	100.000	-0,3	< 0,015

Sensitivität

Die untere Grenzkonzentration, die vom CEDIA® Cyclosporin PLUS Assay noch erfasst wird, liegt bei 25 ng/mL. Dieser Wert folgt aus der Berechnung der Cyclosporinkonzentration, die einen Messwert entsprechend zwei Standardabweichungen des Low-Kalibrators ergäbe. Die funktionelle Sensitivität, d.h. die niedrigste Konzentration mit einem Inter-Assay-Variationskoeffizienten von 20%, liegt bei 40 ng/mL.

Literatur

- Borel, J.F., Cyclosporine A - present experimental status. *Transplant Proc* 13: 344-348, (1981).
- Schreiber, S.L., Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science* 251: 283-287, (1991).
- Chaudhuri, B., Stephan, C. Only in the presence of immunophilins can cyclosporine and FK506 disrupt binding of Calcineurin A to its autoinhibitory domain yet strengthen interaction between Calcineurin A and B subunits. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 215(2): 781-790, (1995).
- Britton, S., R. Palacios, Cyclosporine A Usefulness, Risks and Mechanism of Action. *Immunological Review* 65: 5, (1982).
- Keown, P.A., G.L. Essery, C.R. Stiller, N.R. Sinclair, R. Mullen, R.A. Ulan, Mechanisms of Immunosuppression by Cyclosporine. *Transplantation Proceedings* 13(1): 386, (1981).
- Sells, R.A., *Transplantation Proceedings* 15: 2495, (1983).
- Alberchtsen, D., Soedal, G., Berg, K.J., Bondevik, H., Brekke, I.B., Fauchald, P., Jakobsen, A., Opedal, B.R. Rugstund, H.E. Thorsby, E., et. al., Cyclosporine in Living Related and Cadaveric Renal Transplantation.
- Barton, C.H., Vaziri, N.D. Cyclosporine nephrotoxicity. *International J of Artificial Organs* 8: 291-296, (1985).
- Myers, B.D. et al. Cyclosporine - associated chronic nephrotoxicity. *N Engl J Med* 311: 699-705, (1984).
- Atkinson, K., et al., *Transplantation Proc.* 15: 2761, (1983).
- Hows, J.M., Chipping, P.M., Fairhead, S., Smith, J., Baughan, A., Gordin-Smith, E.C., Nephrotoxicity in Bone Marrow Transplant Recipients Treated with Cyclosporine A. *Br. J. Hematol* 54(1): 69-78, (1983).
- Rosano, T.G., Freed, B.M., Pell, M.A., and Lempert, N. Cyclosporine metabolites in human blood and renal tissue. *Transplant Proc* 18 (Suppl 5): 35-40, (1986).
- Giacherio, D., T. Annesley. Cyclosporine: Monitoring the Dosage of a New Immunosuppressant, *Medilab April/May*: 20-25, (1985).
- Kahan, B.D., et al., *Transplantation Proc.* 15: 446, (1983).
- National Academy of Clinical Biochemistry/American Association for Clinical Chemistry Task Force on Cyclosporine Monitoring. *Clinical Chemistry* 33(7): 1269-1288, (1987).
- Van Buren, D., Wideman, C.A., Reid, M. et al., The antagonistic effect of rifampin upon cyclosporine bioavailability. *Transplant Proc* 18: 25-34, (1986).
- Freeman, D.J., Lanpacis, A., Keown, P.A., Stiller, C.R., Carrather, S.G. Evaluation of Cyclosporine-Phenytoin interaction with observations on cyclosporine metabolites. *Br J Clin Pharmacol* 18: 887-893, (1984).
- Oellerich, M., Armstrong, V.W., Kahan, B. et al., Lake Louise consensus conference on cyclosporine monitoring in organ transplantation: Report of the Consensus Panel. *Ther. Drug Monit.* 17(6): 642-654, (1995).
- Morris, R.G., Russ, G.R., Cervieeli, M.J. et al., Comparison of trough, 2-hour, and limited AUC blood sampling for monitoring cyclosporine Neoral® at day 7 post-renal transplantation and incidence of rejection in the first month. *Ther. Drug Monit.* 24(4): 479-485, (2002).
- Andrews, D.J., and Cramb, R. Cyclosporine: revisions in monitoring guidelines and review of current analytic methods. *Ann. Clin. Biochem.* 39: 424-435, (2002).
- Henderson, D.R., Friedman, S.B., Harris, J.D., Manning, W.B., Zoccoli, M.A. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. *Clin Chem*, 32(9): 1637-1641, (1986).
- Potter JM, Sef H. Cyclosporine A: Variation in whole blood levels related to in vitro anticoagulant usage. *Therapeutic Drug Monit.* 8:122-123, (1986).
- Data on file at Microgenics Corporation, a part of Thermo Fisher Scientific.
- Food and Drug Administration. Guidance Criteria for Cyclosporine PMAs. (1992).

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.thermoscientific.com/diagnostics

Andere Länder:

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

CEDIA ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics.

10007380-15-DE
2018 01

Thermo
SCIENTIFIC