

CEDIA® Cyclosporine PLUS Assay

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Diagnostiseen in vitro -käyttöön

Rx Only

REF 100147

Käyttötarkoitus

CEDIA® Cyclosporine PLUS -analysointimenetelmä on tarkoitettu ihmisen kokoveren syklosporiinipitoisuuden kvantitatiiviseen in vitro -määritykseen kliinisen kemian analysointilaboratorien avulla, ja se tukee munuais-, maksa- ja sydänsiirännäisten syklosporiinihoitoa.

Yhteenveto ja testin selitys

Syklosporiini on sieniperäinen hydrofobinen syklinen undekapeptidi, jolla on immunosuppressiivisia ominaisuuksia.^{1,2} Sen toimintamekanismia tutkitaan edelleen, mutta se näyttää vaikuttavan auttaja-T-solujen ja regulatoristen T-solujen metaboliaan siten, että tuloksena on immuunijärjestelmän paraneminen.^{3,5} Immunosuppressiivisten ominaisuuksiensa ansiosta syklosporiini on erittäin tehokas lääke tiettyjen autoimmuunisairauksien hoitoon ja se vähentää elinsiirron jälkeistä kudoshyljintää. Syklosporiinihoito on erittäin turvallinen ja tehokas vain tietyillä pitoisuuksilla ja sillä voi olla useita haittavaikutuksia.^{6,7} Vakavimpia haittavaikutuksia ovat riittämättömästä annostelusta johtuva elimen hyljintä sekä nefrotoksisuus ja hepatotoksisuus, joiden todennäköisyys lisääntyy, kun lääkepitoisuus kasvaa.^{8,11} Syklosporiini annetaan joko suun kautta tai suonensisäisesti. Koska lääkkeen imeytyminen ja hepatittinen metabolia vaihtelevat suuresti eri potilailla, veripitoisuudet eivät korreloi hyvin annetun annoksen kanssa.¹² Veren syklosporiinipitoisuuksiin vaikuttaa siirteen tyyppi, potilaan ikä ja yleiskunto sekä samanaikainen muiden lääkkeiden käyttö (esim. karbamatepiini, fenytoiini, fenobarbitaali, erytromysiini, rifampisiini, simetidiini ja ketokonatsoli).^{13,17} Elinten siirrossa on tärkeää valvoa syklosporiinipitoisuutta, jotta potilailla saavutetaan parhaat mahdolliset immunosuppressiiviset vaikutukset.^{18,20}

Syklosporiinipitoisuuksien mittaaminen kokoverestä sekä muut laboratoriotiedot ja kliiniset arvioinnit ovat paras keino optimoida immunosuppressiiviset vaikutukset ja ehkäistä haittavaikutukset elinsiirtojen vastaanottajilla.

CEDIA Cyclosporine PLUS -määrityksessä käytetään yhdistelmä-DNA-tekniikkaa (Yhdysvaltain patenttino 4708929), jolla tuotetaan yksilöllinen homogeeninen entsyymi-immunomääritysjärjestelmä.²¹ Tämä määrittäminen perustuu bakteerientsyymien β-galaktosidaasiin, joka on geneettisesti valmistettu kahtena inaktiivisena fragmenttina. Nämä fragmentit liittyvät spontaanisti yhteen ja muodostavat täysin aktiivisia entsyymejä, jotka määrittämuodossa pilkkovat substraatin ja tuottavat värimuutoksen, joka voidaan mitata spektrofotometrisesti.

Määrityksessä näytteessä oleva analytti kilpailee β-galaktosidaasin inaktiiviseen fragmenttiin konjugoituneen analyytin kanssa vasta-aineen sitoumiskohdasta. Jos näytteessä on analyyttia, se sitoutuu vasta-aineeseen ja jättää inaktiiviset entsyymifragmentit vapaiksi muodostamaan aktiivisia entsyymejä. Jos näytteessä ei ole analyyttia, vasta-aine sitoutuu inaktiiviseen fragmenttiin konjugoituneeseen analyyttiin ja estää inaktiivisten β-galaktosidaasin fragmenttien uudelleensitoutumisen, jolloin aktiivista entsyymiä ei muodostu. Muodostuneen aktiivisen entsyymien määrä ja saatu absorbanssin muutos ovat suhteessa näytteessä olevan analyytin määrään.

Reagenssit

- EA-rekonstituutiopuskuri:** Sisältää MOPS-puskuria [3-(N-morfoliini-)propaanisulfonihappo], 0,50 µg/ml hiiren monoklonaalista syklosporiinin vasta-ainetta, stabilointiainetta ja säilöntäainetta, 1 x 41 ml.
- 1a EA-reagenssi:** Sisältää 0,171 g/l entsyymiaseptoria (mikrobinen), puskurisuoloja ja säilöntäainetta, 1 x 41 ml.
- 2 ED-rekonstituutiopuskuri:** Sisältää MES-puskuria [2-(N-morfoliini-)jetaanisulfonihappo], puhdistusainetta ja säilytysainetta, 1 x 19 ml.
- 2a ED-reagenssi:** Sisältää 52 µg/l entsyymidonorina (mikrobinen) konjugoituneena syklosporiiniin, 2,73 g/l kloorifenoli punainen-β-D-galaktopyranosidi, stabilointiaine ja säilytysaine, 1 x 19 ml.
- 3 Lyysausreagenssi:** Sisältää puskurisuoloja, puhdistusaineita ja säilytysainetta, 1 x 98 ml.
- 4 Ala-alueen kalibrintiliuos A:** Sisältää 0,45 g BSA:ta ja 0,063 µg syklosporiini A:ta.
- 5 Ala-alueen kalibrintiliuos B:** Sisältää 0,45 g BSA:ta ja 1,125 µg syklosporiini A:ta.

Lisämateriaalit:

Kaksi (2) tyhjää 20 ml:n analyysattoripulloa.

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät sisälly toimitukseen:

REF

100012

Pakkauksen kuvaus

CEDIA Cyclosporine PLUS High Range Calibrator Kit

Automaattinen kliinisen kemian analyysattori

Yleisesti myynnissä olevat kontrolliaineet. Jos haluat lisätietoja ja suosituksia sopivasta kontrolliaineesta, ota yhteyttä Thermo Fisher Scientificin tekniseen tukeen.

Varoitukset ja varoitukset

Kaikkien laboratorioreagenssien käytössä on noudatettava normaaleja varotoimia.

VAARA: EA-jauhereagenssi sisältää ≤1,0 massaprosenttia natriumatsidia. ED-jauhereagenssi sisältää 55 massaprosenttia naudan seerumin albumiinia (BSA). EARB-nestereagenssi sisältää 0,75 % naudan seerumia (sikiö), <0,1 % CsA-vasta-ainetta (hiiren monoklonaalinen) ja <0,13 % natriumatsidia. EDRB- ja lyysausnestereagenssit sisältävät <0,13 % natriumatsidia. Kalibrintiliukset sisältävät 18 % naudan seerumin albumiinia (BSA) ja ≤0,13 % natriumatsidia. H317 – Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. H334 – Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia. H412 – Haitallista vesieläimille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. EUH032 – Kehittää erittäin myrkyllistä kaasua hapon kanssa.

Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä. Kontaminoituneita työvaatteita ei saa viedä pois työpaikalta. Vältettävä päästämistä ympäristöön. Käytä suojakäsineitä/suojalaseja/kasvosuojusta. Mikäli tuuletus on riittämätöntä, käytä hengityssuojainta. Jos ainetta pääsee iholle: Pese runsaalla saippualla ja vedellä. **SISÄÄNHENGITETTYNÄ:** Jos hengitysvaikeuksia, siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja pidä lepoasennossa, jossa on helppo hengittää. Jos ihoärsyystä tai ihottumaa ilmenee: Hakeudu lääkäriin hoitoon. Jos ilmenee hengitysoireita: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin. Kontaminoituneet vaatteet on pestävä ennen uudelleenkäyttöä. Sisältö/säiliö on hävitettävä paikan päällä paikallisten/alueellisten/kansallisten/kansainvälisten säädösten mukaisesti.

Reagenssin valmistelu ja säilytys

Katso määrittämissä parametreitrit laitteen käyttöohjeista. Käytä seuraavien liuosten valmistelussa kylmiä reagensseja ja puskuriaineita. Poista pakkaus jääkaappisäilytyksestä (2–8 °C) juuri ennen liuosten valmistelua.

Jos materiaalia roiskuu, puhdistaa ja hävitä materiaali laboratorion vakiokäytäntöjen sekä paikallisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.

Jos pakkaus on saapuessaan vaurioitunut, ota yhteyttä teknisen tuen edustajaan (katso tämän pakkauselösteen takasivu).

Valmistele liuokset seuraavassa järjestyksessä, jotta ehkäistään mahdollinen kontaminaatio:

R2-entsyymidonoriliuos: Yhdistä 2a-pullo (ED-reagenssi) 2-pulloon (ED-sekoitusliuos) mukana toimitettavalla liittimellä. Sekoita varovasti kääntämällä pulloa ja varmista, että kaikki lyofilisoitu materiaali siirtyy 2a-pullostas 2-pulloon. **Vältä vaahdon muodostumista.** Irrota 2a-pullo ja liitin 2-pullostas ja hävitä. Sulje 2-pullo ja anna seistä noin 5 minuuttia huoneen lämpötilassa (15–25 °C). Sekoita uudelleen. Merkitse sekoituspäivämäärä pullon etikettiin. Aseta pullo suoraan analyysattorin reagenssilokeroon tai kylmäsäiliöön (2–8 °C) ja anna seistä 15 minuuttia ennen käyttöä.

R1-entsyymiaseptoriliuos: Yhdistä 1a-pullo (EA-reagenssi) 70 ml:n 1-pulloon (EA-sekoitusliuos) mukana toimitetulla liittimellä. Sekoita varovasti kääntämällä pulloa ja varmista, että kaikki lyofilisoitu materiaali siirtyy 1a-pullostas 1-pulloon. **Vältä vaahdon muodostumista.** Irrota 1a-pullo liittimestä. Hävitä 1a-pullo.

Sulje täytetty 1-pullo ja anna sen seistä noin 5 minuuttia huonelämpötilassa (15–25 °C). Sekoita varovasti uudelleen. Merkitse sekoituspäivämäärä pullon etikettiin. Aseta pullo suoraan analyysattorin reagenssilokeroon tai kylmäsäiliöön (2–8 °C). Anna reagenssin seistä analyysattorissa vähintään 15 minuuttia ennen käyttöä.

Jos 70 ml:n pullo (1-pullo) ei mahdu analyysattoriin, käytä mukana toimitettuja kahta (2) pienempää tyhjää, puolisuunnikkaan muotoista pulloa. Kaada suuresta 1-pullostas kahteen pienempään pulloon yhtä suuret määrät liuosta.

Lyysausreagenssi: Lyysausreagenssi on nestemäistä, joten sitä ei tarvitse sekoittaa nesteeseen. Sekoita pullo sisäältä aina ennen käyttöä kääntelemällä pulloa varovasti 2–3 kertaa. Merkitse pullon etikettiin päivä, jolloin lyysausreagenssi on avattu. Irrota korkki ja annostele vaadittu määrä lyysausreagenssia näyteastian asianomaisen CEDIA Cyclosporine PLUS -työohjeen mukaisesti.

Viivakoodin käyttö: Reagenssipullojen viivakoodit on tarkoitettu ala-alueen analysointiin. Reagenssin etiketeissä on viivakoodit, jotka useimmat analyysattorit ohittavat, jos ne eivät tunnista viivakoodeja. Jos analyysattori antaa virhekoodin, peitä viivakoodi läpinäkyvästä muovilla teipillä. Ota tarvittaessa yhteys tekniseen tukeen.

HUOMAUTUS 1: Pakkauksen mukana toimitetut komponentit on tarkoitettu käytettäväksi yhtenä kokonaisuutena. **Eri eristä peräisin olevia komponentteja ei saa sekoittaa keskenään.**

HUOMAUTUS 2: Vältä reagenssien ristikontaminaatio sulkemalla reagenssipullot vain omilla korkeillaan. R2-liuoksen (entsyymin luovuttajan) on oltava väritään keltaoranssia. Punainen tai punavioletti väri tarkoittaa, että reagenssi on kontaminoitunut ja se on hävitettävä.

HUOMAUTUS 3: R1- ja R2-liuosten on oltava analyysattorin reagenssilokeroon säilytyslämpötilassa ennen määrittäksen suorittamista. Lisätietoja löydät analyysattorikohtaisesta työohjeesta.

HUOMAUTUS 4: Valmistele R2-liuos ennen R1-liuosta.

HUOMAUTUS 5: Varmista uudelleen sekoitetun EA-reagenssin stabiilius suojaamalla se pitkään jatkuvalta altistukselta kirkaalle valolle.

Reagenssit on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa. **EI SAA PAKASTAA.** Avaamattomien tuotteiden viimeinen käyttöpäivä on merkitty pakkaukseen tai pullojen etikettiin.

R1-liuos: 60 päivää jäädytettynä 2–8 °C:ssa.
R2-liuos: 60 päivää jäädytettynä 2–8 °C:ssa.
Lyysausreagenssi: 60 päivää 2–30 °C:ssa.
Kalibrointiiliokset: 60 päivää 2–8°C:ssa.

Näytteen kerääminen ja käsittely

Käytä EDTA-käsiteltyä kokoverta.²² On huolehdittava siitä, että näyte säilyy moitteettomana näytteenotosta analysointiin saakka. Näytteisiin on merkittävä verinäytteen ottoaika sekä viimeisen lääkkeenoton aika. Näytteet on säilytettävä suljettuina ja analysoitava 7 päivän (säilytys 2–8 °C) tai 1 kuukauden (säilytys -20 °C) kuluessa. Vältä sulattamista ja uudelleenpakastamista. Näytteisiin ei saa muodostua vaahtoa.

Näytteen valmistelu

1. Anna kalibrointi- ja kontrolliliuosten sekä potilasnäytteiden lämmetä huonelämpötilaan.
2. Sekoita näyte (kalibrointiiliokset, kontrolliliuokset tai potilasnäyte) varovasti mutta huolellisesti ennen käyttöä.
3. Pipetoi täsmälleen 100 µl näytettä näyteastiaan.
4. Lisää toistopipetin avulla täsmälleen 400 µl CEDIA Cyclosporine PLUS -lyysausreagenssia jokaiseen näyteastiaan.
5. Sekoita jokaista astiaa Vortex-sekoittimella perusteellisesti 2–5 sekunnin ajan.
6. Aseta näyteastiat instrumenttiin ja analysoi.

Hemolysaatti säilyy stabiilina 1,5 tunnin ajan 15–25 °C:ssa näyteastiassa.²³

CEDIA Cyclosporine PLUS -analysointimenetelmä on tarkoitettu käytettäväksi automaattisissa kliinisen kemian analysaattoreissa. Tietoa käyttöominaisuuksista on Microgenics Corporationin (joka on Thermo Fisher Scientificin osa) arkistossa.²³

Määrittymenelmä

Kysy lisätietoja määrittymenelmästä Thermo Fisher Scientificin teknisestä tuesta.

Kalibrointi

CEDIA Cyclosporine PLUS -analysointimenetelmä tuottaa lineaarisen standardikäyrän asianomaisten CEDIA Cyclosporine PLUS -pakkauksen kalibrointiiliuosten avulla. Pienimmän neliösumman menetelmän (PNS) lineaarisella regressiolla laskettu tietojen pelkistys voidaan tehdä analysaattorihjelmiston avulla. Validoi analysointimenetelmän kalibrointi testamalla kaupallisia kontrolliaineita CEDIA Cyclosporine PLUS -analysointimenetelmän vakiintuneilla talteenottoalueilla.

HUOMAUTUS: Jokaisessa kalibrointiiliuspakkauksessa on kalibraattoriarvojen määrityskortti. Tarkista kemian parametrit ennen uuden kalibrointiiliuspakkauksen käyttöä varmistaaksesi, että kalibrointiiliuspitoisuudet vastaavat arvojen määrityskortin arvoja.

Kalibrointitajuuus

Uudelleenkalibrointia suositellaan

- reagenssipullon vaihtamisen jälkeen
- kalibraattorin tai reagenssierän vaihtamisen jälkeen
- kuukausittaisen instrumentin huollon jälkeen
- laadunvalvontatoimenpiteiden sitä vaatiessa.

Raportoitava alue

Ala-alueen analysoinnissa raportoitava alue on 25–450 ng/ml. CEDIA Cyclosporine PLUS -analysointimenetelmän pienin havaittavissa oleva pitoisuus on 25 ng/ml.

Ylä-alueen analysoinnissa raportoitava alue on 450–2000 ng/ml.

Alueen ulkopuolella olevat näytteet

Näytteet, joissa pitoisuus ylittää ylä-alueen Cyclosporine PLUS -kalibrointiiliuksen pitoisuuden, voidaan raportoida arvolla > 2000 ng/ml tai laimentaa ottamalla yksi osa alkuperäistä näytettä ja yksi osa syklosporiinonta kokoverta, lyysata ja analysoida uudelleen. Jos laboratoriossa suoritetaan vain ala-alueen syklosporiinin analysointi, alueen ulkopuolella olevat näytteet voidaan laimentaa ottamalla yksi osa alkuperäistä näytettä ja 3 osaa syklosporiinonta kokoverta, lyysata ja analysoida uudelleen.

1. Sekoita näyte varovasti mutta huolellisesti ennen käyttöä.
2. Valmistele laimennus sekoittamalla yksi osa potilasnäytettä ja yksi osa syklosporiinonta kokoverta TAI yksi osa potilasnäytettä ja kolme osaa syklosporiinonta kokoverta.
3. Lisää toistopipetin avulla täsmälleen 400 µl CEDIA Cyclosporine PLUS -lyysausreagenssia jokaiseen näyteastiaan.
4. Sekoita jokaista astiaa Vortex-sekoittimella perusteellisesti 2–5 sekunnin ajan.
5. Aseta näyteastia(t) instrumenttiin ja analysoi uudelleen.

Uudelleenanalysoinnissa saatu arvo johdetaan seuraavasti:

Todellinen arvo = laimennuskerroin x laimennettu arvo

Laimennuskerroin = $\frac{\text{(näytteen tilavuus + syklosporiinittoman kokoveren tilavuus)}}{\text{Näytteen tilavuus}}$

Näytteet, joiden arvot ovat analysoinnin pienimmän havaittavan pitoisuuden alapuolella, raportoidaan arvolla < 25 ng/ml.

Laadunvalvonta ja kalibrointi

Kunkin laboratorion on määritettävä oma kontrollitiheys.

Hyvien laboratoriokäytäntöjen mukaista on testata vähintään kaksi laadunvalvonnan tasoa (lääkinnällisen päätöksen ylä- ja alataso) päivittäin, kun potilasnäytteitä analysoidaan, ja aina kun suoritetaan kalibrointi. Seuraa kontrolliarvoja mahdollisten suuntausten tai siirtymien

havaitsemiseksi. Jos havaitset suuntauksia tai siirtymiä, tai jos kontrolliaineen talteenottoa ei tapahdu määritetyllä alueella, tarkista kaikki käytön parametrit. Jos haluat lisätietoja ja suosituksia sopivasta kontrolliaineesta, ota yhteyttä Thermo Fisher Scientificin tekniseen tukeen. Kaikkien laadunvalvontatoimien on noudatettava paikallisia, valtiollisia ja/tai kansallisia määräyksiä tai akkreditointivaatimuksia.

HUOMAUTUS: Määritä kontrollitavoitteet ja -alueet uudelleen reagenssierän vaihdon jälkeen.

Tulokset ja odotusarvot

Lisätietoja laskennasta saat asianomaisesta käyttöoppaasta tai kyseisen analysaattorin protokollasta.

Rajoitukset²³

CEDIA Cyclosporine PLUS -analysointimenetelmän toimivuutta ei ole todettu muilla kehon nesteillä kuin ihmisen EDTA-kokoverellä.

Kriteeri: Talteenotto ±15 ng/ml aloitusarvosta pitoisuuksilla < 150 ng/ml tai ± 10 % aloitusarvosta pitoisuuksilla > 150 ng/ml.

Ikterus: Ei merkittävää häiriötä I-indeksiin 60 saakka (likimääräinen konjugoitumaton bilirubiinipitoisuus: 60 mg/dl).

Lipemia: Ei merkittävää häiriötä triglyserideistä 1000 mg/dl saakka. Ei merkittävää häiriötä kolesterolista 300 mg/dl saakka. Korkeat triglyseridi- ja kolesterolitasot voivat aiheuttaa liian alhaisia tuloksia.

Kokonaisproteiini: Alle 10 g/dl ei häiritse. Korkeat proteiinitasot voivat aiheuttaa liian alhaisia tuloksia.

Reumatekijä: Alle 100 IU/ml ei häiritse.

Hematokriittialue: 30,5–53,5 %. Korkeat hematokriittitasot voivat aiheuttaa liian alhaisia tuloksia. Potilailla, joilla on metaboliittien akkumulaatio, esimerkiksi heikentynyt maksan toiminta, odottamattoman korkeita lääketasojen tai pitkää aikaa hoidon päättymisestä, tätä analysointia voidaan tukea emoyhdisteelle sopivalla menetelmällä, kuten korkean erotuskyvyn nestekromatografialla (HPLC).

Potilaita, joilla on E. coli β-galaktosidaasin vasta-aineita, on erittäin harvoin. Erät tällaisia vasta-aineita sisältävät näytteet voivat kuitenkin aiheuttaa vääriä korkeita tuloksia, jotka eivät sovi kliiniseen profiiliin. Tässä tilanteessa ota yhteys Thermo Fisher Scientificin tekniseen asiakastukeen avun saamiseksi.

Kuten missä tahansa analyysissä, jossa käytetään hiiren vasta-aineita, mahdolliset HAMA-vasta-aineet (human anti-mouse antibodies) voivat häiritä näytettä, jolloin saadaan liian korkeita tuloksia. On huolehdittava siitä, että verikoete otetaan aina samaan aikaan syklosporiinin ottamisen jälkeen.

Odotusarvot

Veren syklosporiinille ei ole tarkasti määrättyä hoitoaluetta. Kliinisen tilan monimutkaisuus, yksilölliset erot herkkyydessä syklosporiinin immunosuppressiivisille ja nefrotoksille vaikutuksille, muiden immunosuppressanttien antaminen samanaikaisesti, siirteen tyyppi, siirteen asettamisesta kulunut aika sekä monet muut tekijät vaikuttavat siihen, että syklosporiinin optimaalisten veripitoisuuksien suhteen on erilaisia vaatimuksia. Yksilöllisiä syklosporiiniarvoja ei saa käyttää ainoana indikaattorina hoitosuunnitelman muuttamiseen. Jokaisella potilaalla on tehtävä perusteellinen kliininen arviointi, ennen kuin hoitoa muutetaan, ja jokaisen käyttäjän on määritettävä omat alueensa kliinisen kokemuksensa perusteella.²⁴ Alueet vaihtelevat käytetyn kaupallisen testin mukaan. Muutokset ei saa käyttää yksittäisten potilaiden arvojen ennustamiseen. On suositeltavaa käyttää yhdellä potilaalla johdonmukaisesti tiettyä analysointimenetelmää, koska metaboliitteihin liittyvä ristireaktiivisuus vaihtelee.

Erityiset suorituskykyominaisuudet²³

Hitachi 911 -analysaattorilla saadut tyypilliset suorituskykytiedot on esitetty alla. Laboratoriokohtaisesti saadut tulokset voivat poiketa näistä tiedoista. Katso lisätietoja kunkin analysaattorin ominaisuuksista asianomaisista käyttöprotokollista.

Sisäinen tarkkuus

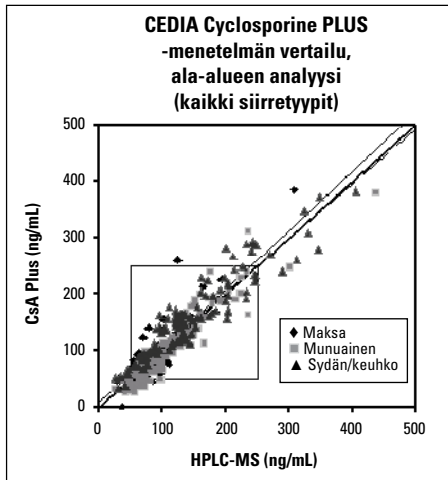
Tarkkuusmittauksissa, joissa käytettiin pakattuja reagensseja, kokoveripoolia ja kokoveren kontrolliaineita, saatiin seuraavat tulokset (ng/ml): Hitachi 911 -analysaattorilla (37 °C) suoritettu NCCLS-modifioitu toistokoe, EP5-T (3 toistoa päivittäin 21 päivän ajan).

Ala-alueen analyysi			Sarjan sisällä		Yhteensä	
Näyte	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
Alhainen pooli	63	54	4,7	8,8	6,6	12,2
Korkea pooli	63	434,7	6,7	1,6	19,4	4,5

Ylä-alueen analyysi			Sarjan sisällä		Yhteensä	
Näyte	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	1257	49,9	4,0	63,9	5,1
Alhainen pooli	63	472	22,8	4,8	35,1	7,5
Korkea pooli	63	1695	39,2	2,3	87,3	5,2

Menetelmän vertailu - ala-alueen analyysi

Vertailtaessa Microgenics CEDIA Cyclosporine PLUS (y) -analysointimenetelmää HPLC-MS (x) -menetelmään neljässä kohteessa saatiin seuraava korrelaatio.



CEDIA Cyclosporine Plus Low Range Assay

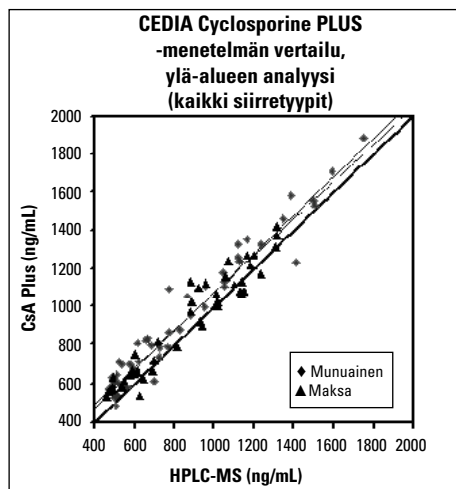
Vertailtaessa Microgenics CEDIA Cyclosporine PLUS (y) -menetelmää FPIA (x)-, EMIT® (x)- ja HPLC-MS (x) -menetelmiin neljässä kohteessa saatiin seuraavat korrelaatiot.

Siirteentyyppi	x-akseli	Lineaarinen regressio $S_{y,x}$	Deming $S_{y,x}$	r	n	Asetusväli
Kaikki	HPLC-MS	0,97x + 8 27	1,05x - 2 27	0,93	311	25–386 ng/ml
Kaikki	EMIT	1,05x + 6 16	1,09x + 2 11	0,97	298	33–412 ng/ml
Kaikki	Axsym	1,00x + 2 19	1,05x - 5 13	0,95	296	35–368 ng/ml
Kaikki	TDx	0,87x - 18 20	0,91x - 25 15	0,95	298	9–386 ng/ml
Sydän/keuhko	HPLC-MS	0,87x + 32 26	0,93x + 24 26	0,94	109	31–383 ng/ml
Maksa	HPLC-MS	1,10x + 0,9 25	1,30x - 18 26	0,88	80	41–386 ng/ml
Munuainen	HPLC-MS	1,02x - 9 24	1,09x - 17 16	0,94	122	25–379 ng/ml

Ala-alueen analysointimenetelmän vertailu HPLC-MS-menetelmään, tutkimuksen perusjoukko: 311 näytettä, henkilöiden ikä 18–77. Mukana 107 akuuttia, 195 kroonista, 109 sydän/keuhko-, 80 maksa- ja 122 munuaissiirrenäytettä, jotka on kerätty 228 henkilöltä jäännöstasolla.

Ylä-alueen analysointimenetelmän vertailu

Verrattaessa Microgenics CEDIA Cyclosporine PLUS (y) -menetelmää HPLC-MS (x) -menetelmään saatiin seuraava korrelaatio.



CEDIA Cyclosporine Plus High Range Assay

Vertailtaessa Microgenics CEDIA Cyclosporine PLUS (y) -menetelmää FPIA (x)-, EMIT® (x)- ja HPLC-MS (x) -menetelmiin neljässä kohteessa saatiin seuraavat korrelaatiot.

Siirteentyyppi	x-akseli	Lineaarinen regressio $S_{y,x}$	Deming $S_{y,x}$	r	n	Asetusväli
Kaikki	HPLC-MS	0,97x + 98 81	1,01x + 71 57	0,97	93	486–1882 ng/ml
Kaikki	EMIT	1,00x + 12 28	1,00x + 11 20	0,99	343	12–1979 ng/ml
Kaikki	Axsym	1,04x - 2 30	1,05x - 4 21	0,99	344	3–1857 ng/ml
Kaikki	TDx	0,96x - 33 36	0,97x - 35 26	0,99	334	15–1932 ng/ml
Maksa	HPLC-MS	0,94x + 99 73	0,98x + 70 52	0,96	46	529–1417 ng/ml
Munuainen	HPLC-MS	0,99x + 107 82	1,02x + 84 58	0,97	47	486–1882 ng/ml

Ylä-alueen analysointimenetelmän vertailu HPLC-MS-menetelmään, tutkimuksen perusjoukko: 93 näytettä, henkilöiden ikä 30–72. Mukana 83 akuuttia, 8 kroonista, 46 maksa- ja 47 munuaissiirrenäytettä, jotka on kerätty 21 henkilöltä 8 tunnin kuluessa syklosporiinin ottamisesta.

Lineaarisuus

Lineaarisuuden määrittämistä varten korkean syklosporiinitason potilaspooli laimennettiin lääkkeettömällä kokoverinäytteellä ala-alueen analyysia varten, ylä-alueen analyysissa laimennukseen käytettiin syklosporiinipotilaspoolia. Talteenotto-%:n määrittettiin sitten jakamalla tutkittu arvo odotusarvolla. Odotusarvot luotiin tutkittujen arvojen regressioyhtälön kulmakertoimen ja leikkauspisteen avulla.

%:a alkup. näytettä	Ala-alueen analyysi			Ylä-alueen analyysi		
	Odotus-arvo (ng/ml)	Tutkittu arvo (ng/ml)	Talteenotto-%	Odotus-arvo (ng/ml)	Tutkittu arvo (ng/ml)	Talteenotto-%
100,0	433	433	100,0	1930	1930	100,0
90,0	390	386	99,1	1782	1785	100,2
80,0	347	332	95,5	1633	1708	104,6
70,0	304	298	97,9	1485	1573	105,9
60,0	261	263	100,6	1337	1361	101,8
50,0	218	222	101,6	1189	1244	104,7
40,0	176	184	104,6	1040	1028	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

Talteenotto

Analyysin talteenoton arvioimiseksi syklosporiinia lisättiin 21 normaaliin kokoverinäytteeseen. Jokaisessa 21 näytteen sarjassa syklosporiinia lisättiin taulukossa näkyvä määrä. Talteenotto-%:n määrittettiin jakamalla jokaisen 21 tunnetun määrän syklosporiinia sisältävän näytteen sarjan keskiarvo näytteisiin lisätyn syklosporiinin teoreettisella määrällä.

Ala-alueen analyysi			Ylä-alueen analyysi		
N	21	21	N	21	21
Tavoite, ng/ml	150	300	Tavoite, ng/ml	600	1600
x (ng/ml)	141	308	x (ng/ml)	590	1570
Talteenotto-%	94	103	Talteenotto-%	98	98

Spesifisyys

Seuraavat yhdisteet on testattu CEDIA Cyclosporine PLUS -analyysissa ristireaktiivisuuden suhteen käyttämällä in vitro -kokoverinäytteitä, jotka sisälsivät noin 200 ng/ml syklosporiinia.

Yhdiste	Testattu pitoisuus (ng/ml)	Ristireaktiivisuus (%)
AM 1	1000	4,4
AM 9	1000	20
AM 4n	1000	16
AM 19	1000	0,9
AM 4N9	1000	1,0
AM 1c	1000	1,6

Yhdiste	Testattu pitoisuus (ng/ml)	Havaittu annos (ng/ml)	Risti-reaktiivisuus %
Asetominofeeni	100000	-0,2	< 0,015
Amikasiinisulfaatti	100000	0,7	< 0,015
Ampisilliini	100000	0,4	< 0,015
Atsatiopriini	100000	-5,2	< 0,015
Karbamatsepiini	100000	-2,8	< 0,015
Kloramfenikoli	100000	-1,3	< 0,015
Simetidiini	100000	1,7	< 0,015
Digitoksiini	100000	-1,2	< 0,015
Digoksiini	100000	-1,4	< 0,015
Dipyridamidi	100000	-4,1	< 0,015
Disopyramidi	100000	-3,3	< 0,015
Erytromysiini	100000	-2,8	< 0,015
FK506	20000	3,8	< 0,075
Furosemiidi	100000	-4,2	< 0,015
Gentamysiini	100000	-1,1	< 0,015
Kanamysiini	100000	0,1	< 0,015
Kanamysiinisulfaatti B	100000	0,7	< 0,015
Ketokonatsoli	100000	-0,9	< 0,015
Lidokaiini	100000	-1,6	< 0,015
Metyyliprednisoloni	100000	-0,6	< 0,015
Morfiinisulfaatti	100000	-5	< 0,015
Mykofenolihappo	50000	-4,7	< 0,030
N-asetyyliprokaiiniamidi	100000	-1,3	< 0,015
G-penisilliini (natriumsuola)	100000	-0,8	< 0,015
Fenobarbitaali	100000	-10,1	< 0,015
Fenytoiini	100000	-3,1	< 0,015
Pratsosiini	100000	-0,7	< 0,015
Prednisoloni	100000	-2,4	< 0,015
Prednisoni	100000	-0,8	< 0,015
Prokaiiniamidi HCL	100000	-2,8	< 0,015
Kinidiinisulfaatti	100000	-1,6	< 0,015
Rapamysiini	5000	-4,8	< 0,300
Rifampisiini	60000	-7,3	< 0,025
Salisyylihappo	100000	-0,7	< 0,015
Spektinomysiini	100000	-0,5	< 0,015
Streptomysiinisulfaatti	100000	1,1	< 0,015
Teofylliini	100000	0,2	< 0,015
Tobramysiini	100000	0,2	< 0,015
Triamtereeni	100000	-1,6	< 0,015
Valproiinihappo	100000	-1,3	< 0,015
Vankomysiini HCL	100000	0	< 0,015
Verapamiili	100000	-0,3	< 0,015

Herkkyyks

CEDIA Cyclosporine PLUS -analysoinnissa pienin havaittavissa oleva määrä on 25 ng/ml. Arvo määritettiin laskemalla sellainen syklosporiinipitoisuus, jonka antama tulos vastaa kahta alhaisen kalibraattorin standardipitoisuutta. Toiminnallinen herkkyys, eli alin pitoisuus tutkimustenvälisellä vaihtelukertoimella 20 %, on 40 ng/ml.

Lähdeviitteet

- 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. Rugstang, 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).
- Giachero, 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. SyklosporiiniA: Variation in whole blood levels related to in vitro anticoagulant usage. *Therapeutic Drug Monit.* 8:122-123, (1986).
- Tietoa Microgenics Corporationin, Thermo Fisher Scientificin osan, arkistossa.
- Food and Drug Administration. Guidance Criteria for Cyclosporine PMAs. (1992).

Sanasto:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Asiakaspalvelu ja
tekninen tuki Yhdysvalloissa:
1-800-232-3342



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



Pakkauselosteen päivitykset löytyvät osoitteesta
www.thermoscientific.com/diagnostics

Muut maat:

Ota yhteyttä paikalliseen Thermo Fisher Scientific -edustajaan.

CEDIA on Roche Diagnosticsin rekisteröity tavaramerkki.

10007380-15-FI
2018 01

Thermo
SCIENTIFIC