

Dosaggio CEDIA® PLUS per la ciclosporina

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Per uso diagnostico in vitro

Rx Only

REF 100147

Uso previsto

Il dosaggio CEDIA® PLUS per la ciclosporina è uno strumento diagnostico in vitro previsto per la determinazione quantitativa della ciclosporina nel sangue intero umano da utilizzare sugli analizzatori per chimica clinica automatizzati, come ausilio nella gestione della terapia con ciclosporina nel trapianto del rene, fegato e cuore.

Sommario e spiegazione del metodo

La ciclosporina è un undecapeptide ciclico idrofobo di origine fungina avente proprietà immunosoppressive.^{1,2} Il suo meccanismo d'azione non è ancora completamente noto; tuttavia la ciclosporina sembra influire sul metabolismo dei linfociti T helper e T soppressori, comportando una soppressione del sistema immunitario.^{3,5} Le proprietà immunosoppressive della ciclosporina la rendono un farmaco altamente efficace per il trattamento di alcune malattie autoimmuni e per la riduzione dell'incidenza di rigetto a seguito di un trapianto d'organo. La terapia con ciclosporina ha un grado di sicurezza ed efficacia ottimali in un range di concentrazioni molto limitato, e può provocare numerosi effetti collaterali.^{6,7} Gli effetti collaterali più gravi sono il rigetto dell'organo causato dalla somministrazione di dosi insufficienti, o nefrotossicità e epatotossicità, che si verificano con maggiore probabilità con l'aumento della concentrazione del farmaco.⁸⁻¹¹ La ciclosporina viene somministrata per via orale o endovenosa. Poiché l'assorbimento e il metabolismo epatico del farmaco variano notevolmente da paziente a paziente, esiste una scarsa correlazione tra i livelli ematici e la dose somministrata.¹² Tra i fattori che influiscono sulle concentrazioni ematiche di ciclosporina vi sono la natura del trapianto, l'età e lo stato di salute generale del paziente, e la somministrazione concomitante di altri farmaci come la carbamazepina, la fenitoina, il fenobarbitale, l'eritromicina, la rifampicina, la cimetidina e il cetoconazolo.¹³⁻¹⁷ Al fine di ottenere effetti immunosoppressivi ottimali, è di fondamentale importanza monitorare la ciclosporina nel trapianto di organi.^{18,20}

La misurazione delle concentrazioni di ciclosporina nel sangue intero, in combinazione con altri dati di laboratorio e considerazioni cliniche, costituisce il metodo più efficace per assicurare un'adeguata terapia immunosoppressiva e ridurre al minimo gli effetti collaterali nei pazienti sottoposti a trapianti di organi.

Il dosaggio CEDIA PLUS per la ciclosporina è un immunodosaggio enzimatico omogeneo che si avvale della tecnologia del DNA ricombinante (brevetto USA n. 4708929).²¹ Il dosaggio è basato sull'enzima batterico β -galattosidasi, geneticamente suddiviso in due frammenti inattivi. Questi frammenti si riassociano spontaneamente per formare enzimi pienamente attivi in grado di legarsi, nel formato del dosaggio, ad un substrato, dando luogo ad una variazione cromatica misurabile spettrofotometricamente.

Nel dosaggio, l'analita presente nel campione compete con l'analita coniugato ad un frammento inattivo di β -galattosidasi per il sito di legame anticorpale. Se l'analita è presente nel campione, si lega all'anticorpo, lasciando i frammenti inattivi di enzima liberi di riassociarsi per formare l'enzima attivo. Se l'analita non è presente nel campione, l'anticorpo si lega all'analita coniugato sul frammento inattivo, inibendo la riassociazione dei frammenti inattivi di β -galattosidasi, e quindi la formazione dell'enzima attivo. La quantità di enzima attivo formata e la risultante variazione di assorbanza sono direttamente proporzionali alla quantità di analita presente nel campione.

Reagenti

- 1 Tampone di ricostituzione per EA:** contiene MOPS [tampone acido 3-(N-morfolino) propanosulfonico], 0,50 $\mu\text{g/mL}$ di anticorpi monoclonali (murini) anti-ciclosporina, stabilizzante e conservante, 1 x 41 mL.
- 1a Reagente EA:** contiene 0,171 g/L di accettore enzimatico (microbico), sali tampone e conservante, 1 x 41 mL.
- 2 Tampone di ricostituzione per ED:** contiene MES [tampone acido 2-(N-morfolino) etanosulfonico], detergente e conservante, 1 x 19 mL.
- 2a Reagente ED:** contiene 52 $\mu\text{g/L}$ di donatore enzimatico (microbico) coniugato con ciclosporina, 2,73 g/L di rosso di clorofenolo- β -D-galattopiranoside, stabilizzanti e conservante, 1 x 19 mL.
- 3 Reagente lisante:** contiene sali tampone, detergenti e conservante, 1 x 98 mL.
- 4 Calibratore per range basso A:** contiene 0,45 g BSA e 0,063 μg Ciclosporina A.
- 5 Calibratore per range basso B:** contiene 0,45 g BSA e 1,125 μg Ciclosporina A.

Ulteriori materiali:

Due (2) flaconi vuoti da 20 mL per analizzatore.

Ulteriori materiali necessari (ma non forniti):

REF	Descrizione del kit
100012	Kit calibratore per range alto CEDIA PLUS per la ciclosporina

Analizzatore per chimica clinica automatizzato
Controllo(i) commerciale(i). Per consigli sul materiale di controllo più adatto al dosaggio, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica Thermo Fisher Scientific.

⚠ Avvertenze e precauzioni

Adottare le normali precauzioni necessarie per la manipolazione di tutti i reagenti di laboratorio.

PERICOLO: il reagente EA in polvere contiene $\leq 1,0\%$ p/p di sodio azide. Il reagente ED in polvere contiene 55% p/p di albumina sierica bovina (BSA). Il reagente EARB liquido contiene $0,75\%$ di siero bovino (fetale), $< 0,1\%$ di anticorpo anti-CsA (monoclonale murino) e $< 0,13\%$ di sodio azide. I reagenti EDRB e lisanti liquidi contengono $< 0,13\%$ di sodio azide. Il calibratore contiene 18% di albumina sierica bovina (BSA) e $\leq 0,13\%$ di sodio azide.
H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.
H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.
EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Non respirare polveri, nubi, vapori e spray. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Non disperdere nell'ambiente. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVITALENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Preparazione e conservazione dei reagenti

Fare riferimento al foglio dell'applicazione specifico per lo strumento per i parametri del dosaggio. Preparare le soluzioni seguenti utilizzando reagenti e tamponi freddi. Estrarre il kit dal frigorifero ($2-8^{\circ}\text{C}$) appena prima della preparazione delle soluzioni di lavoro.

In caso di fuoriuscite accidentali, pulire e smaltire il materiale in conformità alle SOP del laboratorio e alle normative vigenti.

Se la confezione arriva danneggiata, contattare il rappresentante locale dell'assistenza tecnica (fare riferimento al retro di questo foglietto illustrativo).

Preparare le soluzioni nel seguente ordine per ridurre al minimo la possibilità di contaminazione.

Soluzione R2 di donatore enzimatico: collegare il flacone 2a (reagente per ED) al flacone 2 (tampone di ricostituzione per ED) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a si trasferisca nel flacone 2. **Evitare la formazione di schiuma.** Staccare il flacone 2a e l'adattatore dal flacone 2 e gettarli. Tappare il flacone 2 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente ($15-25^{\circ}\text{C}$). Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o nel frigorifero ($2-8^{\circ}\text{C}$) e lasciar riposare per 15 minuti prima dell'uso.

Soluzione R1 di accettore enzimatico: collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 da 70 mL (tampone di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a si trasferisca nel flacone 1. **Evitare la formazione di schiuma.** Staccare il flacone 1a dall'adattatore. Gettare il flacone 1a.

Tappare il flacone 1 così riempito e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente ($15-25^{\circ}\text{C}$). Mescolare nuovamente con delicatezza. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o nel frigorifero ($2-8^{\circ}\text{C}$). Lasciar riposare il reagente sull'analizzatore per almeno 15 minuti prima dell'uso.

Se l'analizzatore non può accogliere il flacone da 70 mL (flacone 1), sono stati inclusi due (2) flaconi più piccoli vuoti trapezoidali. Trasvasare il contenuto del flacone 1 più grande in ciascuno dei 2 flaconi più piccoli, dividendo equamente il volume tra i due flaconi.

Reagente lisante: il reagente lisante è liquido e non necessita di ricostituzione. Capovolgere delicatamente 2-3 volte il flacone per miscelare il contenuto prima di ogni uso. Sull'etichetta del flacone annotare la data in cui si è aperto il reagente lisante. Stappare il flacone e versare la quantità necessaria di reagente lisante in una coppetta per campioni come specificato nel foglio dell'applicazione CEDIA PLUS per la ciclosporina pertinente.

Uso dei codici a barre: i codici a barre apposti sui flaconi dei reagenti sono per il dosaggio per range basso. Le etichette dei reagenti dispongono di un codice a barre del sistema dedicato che la maggior parte degli analizzatori ignora se non viene riconosciuto. Se l'analizzatore restituisce un codice di errore, ricoprire il codice a barre con nastro adesivo non trasparente. Se necessario, contattare l'assistenza tecnica.

NOTA 1: i componenti forniti in questo kit sono previsti per l'uso concomitante. **Non mescolare tra loro componenti di lotti diversi.**

NOTA 2: per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, non scambiare tra loro i tappi dei diversi flaconi. La soluzione R2 (donatore enzimatico) deve essere di colore giallo arancio. La comparsa di un colore rosso o rosso porpora indica la contaminazione del reagente, che va quindi eliminato.

NOTA 3: prima dell'esecuzione del dosaggio, le soluzioni R1 e R2 vanno portate alla temperatura dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

NOTA 4: preparare la soluzione R2 prima della soluzione R1.

NOTA 5: per garantire la stabilità del reagente EA ricostituito, non esporlo per un periodo prolungato all'azione diretta di forti sorgenti luminose. Conservare i reagenti a $2-8^{\circ}\text{C}$. **NON CONGELARLI.** Per il periodo di stabilità dei componenti non aperti, vedere la data di scadenza sulla confezione o sulle etichette dei flaconi.

Soluzione R1: 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.
Soluzione R2: 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.
Reagente lisante: 60 giorni a 2-30°C.
Calibratore: 60 giorni a 2-8°C.

Raccolta e trattamento del campione

Usare sangue intero trattato con EDTA.²² Esercitare la massima cautela al fine di mantenere l'integrità del campione dal momento del prelievo fino al momento dell'analisi. Sui campioni si deve annotare sia l'ora del prelievo ematico che l'ora dell'ultima somministrazione del farmaco. Tappare i campioni e analizzarli entro 7 giorni dal prelievo se conservati a 2-8°C, o entro 1 mese dal prelievo se conservati a -20°C. Evitare di congelarli e scongelarli ripetutamente. Evitare la formazione di schiuma nei campioni.

Preparazione dei campioni

1. Consentire ai calibratori, ai controlli e ai campioni dei pazienti di stabilizzarsi a temperatura ambiente.
2. Mescolare i campioni (calibratori, controlli o campioni dei pazienti) delicatamente ma a fondo prima dell'uso.
3. Dosare esattamente 100 µL di campione in una cassetta per campioni.
4. Usando una pipetta a ripetizione, aggiungere esattamente 400 µL di reagente lisante CEDIA PLUS per la ciclosporina a ciascuna cassetta per campioni.
5. Agitare bene mediante vortex ciascuna cassetta per 2-5 secondi.
6. Inserire le cassette per campioni nello strumento e avviare l'analisi.

L'emolisato è stabile per 1,5 ore a 15-25°C nella cassetta per campioni.²³

Il dosaggio CEDIA PLUS per ciclosporina è indicato per l'uso sugli analizzatori per chimica clinica automatizzati. I dati sul rendimento specifico dell'applicazione sono disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.²³

Procedura di analisi

Contattare l'assistenza tecnica Thermo Fisher Scientific per i parametri applicativi.

Calibrazione

Il dosaggio CEDIA PLUS per la ciclosporina genera una curva lineare standard quando si utilizzano i calibratori adatti appartenenti al kit CEDIA PLUS per la ciclosporina. La riduzione dei dati calcolata dalla regressione lineare dei minimi quadrati può essere ottenuta utilizzando appropriati programmi software per analizzatore. Convalidare la calibrazione del dosaggio testando un controllo, o più controlli commerciali con range di recupero definiti per il dosaggio CEDIA PLUS per ciclosporina.

NOTA: in ciascun kit di calibratori sono incluse schede di assegnazione dei valori dei calibratori. Prima di usare un nuovo kit di calibratori, controllare i propri parametri chimici per assicurarsi che le concentrazioni dei calibratori corrispondano ai valori riportati sulla relativa scheda.

Frequenza della calibrazione

Si consiglia di ripetere la calibrazione nei seguenti casi:

- dopo aver sostituito i flaconi dei reagenti;
- quando si utilizzano calibratori o reagenti con un numero di lotto diverso;
- dopo aver eseguito la manutenzione mensile dello strumento;
- come necessario, in ottemperanza alle procedure di controllo della qualità.

Range riportabile

Il range basso riportabile per il dosaggio è compreso tra 25 ng/mL e 450 ng/mL. La concentrazione minima rilevabile del dosaggio CEDIA PLUS per la ciclosporina è di 25 ng/mL.

Il range alto riportabile per il dosaggio è compreso tra 450 ng/mL e 2.000 ng/mL.

Campioni che non rientrano nel range

I campioni con concentrazioni superiori al calibratore alto PLUS per la ciclosporina possono essere classificati come > 2.000 ng/mL; oppure, è possibile diluire una parte del campione originale con una parte di sangue intero privo di ciclosporina, sottoporlo a lisi e rianalizzarlo. Se nel laboratorio è stato eseguito soltanto il Cyclosporine Low Range Assay, è possibile diluire i campioni che non rientrano nell'intervallo refertabile nel seguente modo: una parte di campione originale e 3 parti di sangue intero senza ciclosporina, lisato e rianalizzato.

1. Prima dell'uso miscelare il campione con delicatezza, ma accuratamente.
2. Preparare la diluizione mescolando una parte di campione paziente e una parte di sangue intero senza ciclosporina OPPURE una parte di campione paziente e 3 parti di sangue intero senza ciclosporina.
3. Utilizzando una pipetta a ripetizione, aggiungere esattamente 400 µL di reagente lisante CEDIA PLUS per ciclosporina a ciascuna cassetta per campioni.
4. Agitare ogni cassetta mediante vortex per 2-5 secondi.
5. Porre la(e) cassetta(e) sullo strumento ed eseguire nuovamente l'analisi.

Il valore ottenuto da questa nuova analisi deve essere derivato secondo la formula seguente:

$$\text{Valore reale} = \text{Fattore di diluizione} \times \text{Valore diluito}$$

$$\text{Fattore di diluizione} = \frac{(\text{Volume del campione} + \text{Volume del sangue intero senza ciclosporina})}{\text{Volume del campione}}$$

I campioni che danno valori inferiori alla concentrazione minima rilevabile dal dosaggio devono essere riportati come < 25 ng/mL.

Controllo di qualità e calibrazione

Ciascun laboratorio deve definire la frequenza dei controlli di qualità. Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi di almeno due livelli (punti di decisione medici alto e basso) di controllo della qualità ogni giorno in cui si esegue l'analisi dei campioni dei pazienti e ad ogni calibrazione. Monitorare i valori di controllo per individuare eventuali tendenze o deviazioni. Se si individuano tendenze o deviazioni, o se il controllo non recupera una quantità di farmaco entro il range specificato, riesaminare tutti i parametri operativi. Per consigli sul materiale di controllo più adatto a quest'uso, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica Thermo Fisher Scientific. Tutti i requisiti di controllo della qualità vanno soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

NOTA: riesaminare i target e i range di controllo prima di utilizzare un nuovo lotto di reagenti.

Risultati e valori attesi

Per informazioni dettagliate sui calcoli matematici, consultare il corrispondente manuale d'uso o protocollo specifico per l'analizzatore in dotazione.

Limitazioni²³

Il rendimento del dosaggio CEDIA PLUS per la ciclosporina è stato stabilito esclusivamente con sangue intero umano trattato con EDTA, e non con altri fluidi corporei.

Criterio: recupero di ±15 ng/mL del valore iniziale a concentrazioni < 150 ng/mL o di ± 10% del valore iniziale a concentrazioni > 150 ng/mL.

Iittero: nessuna interferenza significativa fino all'indice I di 60 (concentrazione approssimativa di bilirubina non coniugata: 60 mg/dL).

Lipemia: nessuna interferenza significativa dai trigliceridi fino a 1.000 mg/dL. Nessuna interferenza significativa dal colesterolo fino a 300 mg/dL. Livelli elevati di trigliceridi e colesterolo possono determinare una quantizzazione bassa.

Proteine totali: nessuna interferenza a concentrazioni < 10 g/dL. Livelli elevati di proteine possono determinare una quantizzazione bassa.

Fattore reumatoide: nessuna interferenza con concentrazioni < 100 UI/mL.

Range ematocrito: dal 30,5% al 53,5%. Livelli più elevati di ematocrito possono determinare una quantizzazione bassa. Per i pazienti che possono presentare accumulo di metaboliti, come ad esempio quelli con compromissione delle funzioni epatiche, concentrazioni di farmaco inaspettatamente elevate o aumento dei tempi post terapia, a questo dosaggio si può accoppiare a titolo di conferma un metodo altamente specifico per il composto progenitore, come la cromatografia liquida ad alta prestazione.

L'incidenza di pazienti con anticorpi contro E. coli β-galattosidasi è estremamente bassa. Tuttavia, alcuni campioni che contengono questi anticorpi possono dare risultati artificialmente elevati che non rientrano nel profilo clinico. In questo caso, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica Thermo Fisher Scientific per ulteriori indicazioni.

Come con qualsiasi dosaggio che impiega anticorpi murini, esiste la possibilità che gli anticorpi umani anti-murini (HAMA) interferiscano nel campione, generando risultati falsamente elevati. Accertarsi pertanto che i prelievi ematici vengano eseguiti ad intervalli regolari dopo la somministrazione della ciclosporina.

Valori attesi

Non è stato stabilito un range terapeutico fisso per la ciclosporina nel sangue intero. La complessità dello stato clinico, le differenze individuali in fatto di sensibilità agli effetti immunosoppressivi e nefrotossici della ciclosporina, la somministrazione concomitante di altri farmaci immunosoppressivi, il tipo di trapianto, il tempo post trapianto ed una serie di altri fattori determineranno requisiti diversi in fatto di livelli ottimali di ciclosporina nel sangue. Non ci si deve pertanto basare sui soli valori della ciclosporina per apportare cambiamenti al regime terapeutico. Ciascun paziente va esaminato accuratamente sotto il profilo clinico prima di variare la terapia e ogni medico deve stabilire i propri range in base alla propria esperienza clinica.²⁴ I range varieranno a seconda del test commerciale usato. Non utilizzare i fattori di conversione per prevedere i valori dei singoli pazienti. Si consiglia di utilizzare sempre lo stesso dosaggio per lo stesso paziente, a causa delle variazioni nei pattern di reattività crociata con i metaboliti.

Caratteristiche specifiche del rendimento del test²³

Le caratteristiche di rendimento del test tipiche ottenibili mediante l'analizzatore Hitachi 911 sono riportate qui di seguito. I valori ottenuti nei diversi laboratori possono essere differenti da quelli riportati in questa sede. Per ulteriori dati specifici di rendimento, consultare il protocollo delle applicazioni specifico per l'analizzatore in dotazione.

Precisione

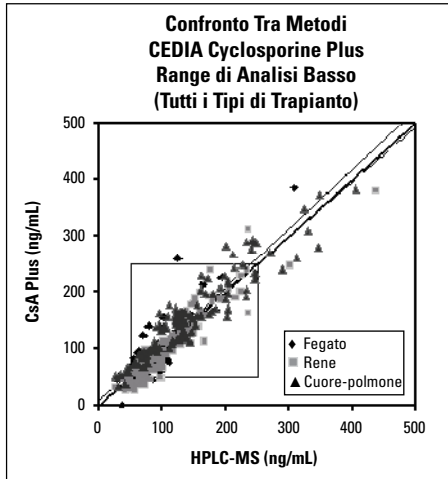
Studi di precisione misurata con reagenti confezionati, sangue intero combinato e controlli di sangue intero hanno dato i seguenti risultati in ng/mL: analizzatore Hitachi 911 (37°C), mediante la metodica di replicazione NCCLS modificata, EP5-T (3 replicati, una volta al giorno per 21 giorni).

Analisi a range basso			Intra-analisi		Totale	
Campione	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
Pool Basso	63	54	4,7	8,8	6,6	12,2
Pool Alto	63	434,7	6,7	1,6	19,4	4,5

Analisi a range alto			Intra-analisi		Totale	
Campione	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
Pool Basso	63	472	22,8	4,8	35,1	7,5
Pool Alto	63	1.695	39,2	2,3	87,3	5,2

Confronto tra metodi - Range di dosaggio basso

I confronti tra il dosaggio Microgenics CEDIA PLUS per la ciclosporina (y) e la cromatografia liquida ad alta prestazione-spettrometria di massa (HPLC-MS) (x) in quattro siti hanno dato la seguente correlazione.



Dosaggio per range basso CEDIA PLUS per la ciclosporina

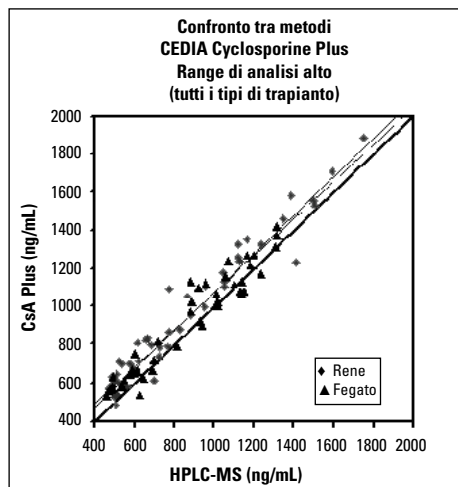
I confronti tra il dosaggio Microgenics CEDIA PLUS per la ciclosporina (y) e le analisi immunologiche a polarizzazione di fluorescenza (FPIA) (x), la tecnica di analisi immunologica a moltiplicazione enzimatica (EMIT®) (x) e la cromatografia liquida ad alta prestazione-spettrometria di massa (HPLC-MS) (x) in quattro siti hanno dato le seguenti correlazioni.

Tipo di trapianto	Asse x	S _{y,x} della regressione lineare	S _{y,x} di Deming	r	n	Range
Tutti	HPLC-MS	0,97x + 8 27	1,05x - 2 27	0,93	311	25-386 ng/mL
Tutti	EMIT	1,05x + 6 16	1,09x + 2 11	0,97	298	33-412 ng/mL
Tutti	Axsym	1,00x + 2 19	1,05x - 5 13	0,95	296	35-368 ng/mL
Tutti	TDx	0,87x - 18 20	0,91x - 25 15	0,95	298	9-386 ng/mL
Cuore/ Polmone	HPLC-MS	0,87x + 32 26	0,93x + 24 26	0,94	109	31-383 ng/mL
Fegato	HPLC-MS	1,10x + 0,9 25	1,30x - 18 26	0,88	80	41-386 ng/mL
Rene	HPLC-MS	1,02x - 9 24	1,09x - 17 16	0,94	122	25-379 ng/mL

Il confronto tra il metodo di dosaggio per range basso e la popolazione HPLC-MS include: 311 campioni prelevati da pazienti di età compresa tra 18 e 77 anni. Sono rappresentati 107 campioni acuti, 195 cronici, 109 trapianti cuore-polmone, 80 trapianti di fegato e 122 trapianti di rene, prelevati da 228 individui a livelli "valle".

Confronto tra metodi - Range di dosaggio alto

I confronti tra il dosaggio Microgenics CEDIA PLUS per la ciclosporina (y) e la cromatografia liquida ad alta prestazione-spettrometria di massa (HPLC-MS) (x) hanno dato la seguente correlazione.



Dosaggio per range alto CEDIA PLUS per la ciclosporina

I confronti tra il dosaggio Microgenics CEDIA PLUS per la ciclosporina (y) e le analisi immunologiche a polarizzazione di fluorescenza (FPIA) (x), la tecnica di analisi immunologica a moltiplicazione enzimatica (EMIT®) (x) e la cromatografia liquida ad alta prestazione-spettrometria di massa (HPLC-MS) (x) in quattro siti hanno dato le seguenti correlazioni.

Tipo di trapianto	Asse x	S _{y,x} della regressione lineare	S _{y,x} di Deming	r	n	Range
Tutti	HPLC-MS	0,97x + 98 81	1,01x + 71 57	0,97	93	486-1882 ng/mL
Tutti	EMIT	1,00x + 12 28	1,00x + 11 20	0,99	343	12-1979 ng/mL
Tutti	Axsym	1,04x - 2 30	1,05x - 4 21	0,99	344	3-1857 ng/mL
Tutti	TDx	0,96x - 33 36	0,97x - 35 26	0,99	334	15-1932 ng/mL
Fegato	HPLC-MS	0,94x + 99 73	0,98x + 70 52	0,96	46	529-1417 ng/mL
Rene	HPLC-MS	0,99x + 107 82	1,02x + 84 58	0,97	47	486-1882 ng/mL

Il confronto tra il metodo di dosaggio per range alto e la popolazione HPLC-MS include: 93 campioni prelevati da pazienti di età compresa tra 30 e 72 anni. Sono rappresentati 83 campioni acuti, 8 cronici, 46 trapianti di fegato e 47 trapianti di rene, prelevati da 21 individui entro 8 ore dalla somministrazione di ciclosporina.

Linearità

Per valutare la linearità, un campione di sangue combinato proveniente da pazienti con concentrazioni elevate di ciclosporina è stato diluito con un campione di sangue intero non contenente farmaco per il dosaggio per range basso; per il dosaggio per range alto, per la diluizione si è utilizzato un campione di sangue combinato contenente ciclosporina. La percentuale di recupero è stata poi determinata dividendo il valore osservato per il valore atteso. I valori attesi sono stati generati basandosi sulla pendenza e sull'intercetta della regressione dei valori osservati.

% campione alto	Range di analisi basso			Range di analisi alto		
	Valore atteso (ng/mL)	Valore analizzato (ng/mL)	% recupero	Valore atteso (ng/mL)	Valore analizzato (ng/mL)	% recupero
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

Recupero

Per valutare il recupero del dosaggio, si è aggiunta ciclosporina a 21 campioni di sangue intero normale. Ciascun gruppo di 21 campioni è stato corretto con ciclosporina come indicato nella tabella. La percentuale di recupero è stata determinata dividendo la dose media di ciascun gruppo di 21 campioni corretti per la quantità teorica di ciclosporina usata per correggere i campioni.

Range di analisi basso			Range di analisi alto		
N	21	21	N	21	21
Bersaglio, ng/mL	150	300	Bersaglio, ng/mL	600	1600
x (ng/mL)	141	308	x (ng/mL)	590	1570
% Recupero	94	103	% Recupero	98	98

Specificità

I seguenti composti sono stati analizzati per rilevare l'eventuale reattività crociata nel dosaggio CEDIA PLUS per la ciclosporina mediante correzione in vitro di campioni di sangue intero contenenti approssimativamente 200 ng/mL di ciclosporina.

Composto	Concentrazione analizzata (ng/mL)	Reattività crociata
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

Composto	Concentrazione analizzata (ng/mL)	Dose osservata (ng/mL)	% reattività crociata
Acido micofenolico	50.000	-4,7	< 0,030
Acido salicilico	100.000	-0,7	< 0,015
Acido valproico	100.000	-1,3	< 0,015
Amicacina solfato	100.000	0,7	< 0,015
Ampicillina	100.000	0,4	< 0,015
Azatioprina	100.000	-5,2	< 0,015
Carbamazepina	100.000	-2,8	< 0,015
Chetoconazolo	100.000	-0,9	< 0,015
Cimetidina	100.000	1,7	< 0,015
Cloramfenicolo	100.000	-1,3	< 0,015
Digitossina	100.000	-1,2	< 0,015
Digossina	100.000	-1,4	< 0,015
Dipiridamide	100.000	-4,1	< 0,015
Disopiramide	100.000	-3,3	< 0,015
Eritromicina	100.000	-2,8	< 0,015
Fenitoina	100.000	-3,1	< 0,015
Fenobarbitale	100.000	-10,1	< 0,015
FK506	20.000	3,8	< 0,075
Furosemide	100.000	-4,2	< 0,015
Gentamicina	100.000	-1,1	< 0,015
Kanamicina	100.000	0,1	< 0,015
Kanamicina solfato B	100.000	0,7	< 0,015
Lidocaina	100.000	-1,6	< 0,015
Metilprednisolone	100.000	-0,6	< 0,015
Morfina solfato	100.000	-5	< 0,015
N-acetilprocainamide	100.000	--1,3	< 0,015
Paracetamolo	100.000	-0,2	< 0,015
Penicillina-G (sale sodico)	100.000	-2,4	< 0,015
Prazosin	100.000	-0,7	< 0,015
Prednisolone	100.000	-2,4	< 0,015
Prednisone	100.000	-0,8	< 0,015
Procainamide cloridrato	100.000	-2,8	< 0,015
Quinidina solfato	100.000	-1,6	< 0,015
Rapamicina	5.000	-4,8	< 0,300
Rifampicina	60.000	-7,3	< 0,025
Spectinomicina	100.000	-0,5	< 0,015
Streptomina solfato	100.000	1,1	< 0,015
Teofillina	100.000	0,2	< 0,015
Tobramicina	100.000	0,2	< 0,015
Triamterene	100.000	-1,6	< 0,015
Vancomicina cloridrato	100.000	0	< 0,015
Verapamil	100.000	-0,3	< 0,015

Sensibilità

La concentrazione minima rilevabile del dosaggio CEDIA PLUS per la ciclosporina è di 25 ng/mL. Questo valore è stato determinato calcolando la concentrazione della ciclosporina in grado di fornire una risposta pari a due deviazioni standard del calibratore basso. La sensibilità funzionale, che rappresenta la concentrazione più bassa con un coefficiente di variazione del 20% tra analisi, è 40 ng/mL.

Bibliografia

- 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. Rugstad, 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).
- Dellerich, M., Armstrong, V.V., 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).

Glossario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Assistenza tecnica e assistenza
alla clientela negli USA:
1-800-232-3342



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



Per gli aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.

CEDIA è un marchio depositato della Roche Diagnostics.

10007380-15-IT
2018 01

Thermo
SCIENTIFIC