

Test CEDIA® Cyklosporyna PLUS

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Do badań diagnostycznych in vitro

Rx Only

REF 100147

Przeznaczenie

Test CEDIA® Cyklosporyna PLUS jest przeznaczony do ilościowego oznaczenia in vitro stężenia cyklosporyny w ludzkiej krwi pełnej w automatycznych klinicznych analizatorach biochemicznych jako pomoc w leczeniu cyklosporyną po przeszczepach nerki, wątroby i serca.

Informacje ogólne i objaśnienie testu

Cyklosporyna jest hydrofobowym cyklicznym undekapeptydem o działaniu immunosupresyjnym, wyizolowanym z grzybów.^{1,2} Chociaż nadal prowadzone są badania mechanizmu działania, wydaje się, że cyklosporyna wpływa na metabolizm limfocytów T wspomagających i limfocytów T hamujących, powodując upośledzenie układu immunologicznego.^{3,5} Działanie immunosupresyjne cyklosporyny powoduje, że jest to bardzo skuteczny lek w leczeniu określonych chorób autoimmunologicznych i ograniczaniu częstości odrzucania tkanek po przeszczepie narządów. Leczenie cyklosporyną ma optymalne bezpieczeństwo stosowania i skuteczność tylko w wąskim zakresie stężeń i może prowadzić do szeregu działań niepożądanych.^{6,7} Najbardziej krytycznym działaniem niepożądanym jest odrzucenie narządu w związku z zastosowaniem niewystarczającej dawki lub nefrotoksyczność lub hepatotoksyczność, które stają się bardziej prawdopodobne w miarę zwiększania stężenia leku.⁸⁻¹¹ Cyklosporyna jest podawana doustnie lub dożylnie. Ponieważ wchłanianie leku i jego metabolizm w wątrobie są bardzo zróżnicowane u poszczególnych pacjentów, istnieje słaba korelacja pomiędzy stężeniem leku we krwi i podaną dawką leku.¹² Czynniki wpływające na stężenie cyklosporyny we krwi obejmują typ przeszczepu, wiek i ogólny stan zdrowia pacjenta oraz inne podawane równocześnie leki takie jak karbamazepina, fenytoina, fenobarbital, erytromycyna, ryfampicyna, cymetydyna i ketonazolol.¹³⁻¹⁷ Monitorowanie stężenia cyklosporyny przy transplantacji narządów ma niezwykle istotne znaczenie dla osiągnięcia optymalnego działania immunosupresyjnego u pacjentów.¹⁸⁻²⁰

Pomiary stężenia cyklosporyny w krwi pełnej wraz z innymi wynikami laboratoryjnymi i oceną kliniczną stanowią najlepszą metodę optymalizacji immunosupresji i zminimalizowania działań niepożądanych u biorców przeszczepianych narządów.

Test CEDIA Cyklosporyna PLUS wykorzystuje technologię rekombinantu DNA (patent amerykański nr 4708929) do wytwarzania wyjątkowego jednorodnego systemu immunoenzymatycznego.²¹ Test opiera się na bakteryjnym enzymie, β-galaktozydazie, który został przygotowany metodami inżynierii genetycznej w postaci dwóch nieaktywnych fragmentów. Te fragmenty samostnie ponownie się łączą, tworząc w pełni aktywne enzymy, które w formacie testu, rozbijają substrat, powodując zmianę zabarwienia, którą można zmierzyć spektrofotometrycznie.

W trakcie testu analiz znajdujący się w próbce rywalizuje z analizem sprzężonym z jednym nieaktywnym fragmentem β-galaktozydazy o miejsce wiązania przeciwciała. Jeśli analiz znajduje się w badanej próbce, wówczas wiąże się z przeciwciałem, pozostawiając nieaktywnym fragmentem enzymu możliwość utworzenia enzymu aktywnego. Natomiast jeśli w próbce nie ma analitu, wówczas przeciwciało wiąże się z analizem sprzężonym z nieaktywnym fragmentem, hamując ponowne połączenie nieaktywnych fragmentów β-galaktozydazy i nie powstaje aktywny enzym. Ilość powstałego aktywnego enzymu i wynikającej z tego zmiany absorbancji jest wprost proporcjonalna do ilości analitu pierwotnie obecnego w próbce.

Odczynniki

- 1 Bufor rozpuszczenia EA:** Zawiera bufor MOPS [kwas 3-(N-morfolino) propanosulfonowy], mysie przeciwciała monoklonalne przeciwko cyklosporynie w stężeniu 0,50 µg/ml, stabilizator i środek konserwujący, 1 x 41 ml.
- 1a Odczynnik EA:** Zawiera EA (mikrobiologiczny) 0,171 g/l, sole buforujące i środek konserwujący, 1 x 41 ml.
- 2 Bufor rozpuszczenia ED:** Zawiera bufor MES [kwas 2-(N-morfolino) etanosulfonowy], detergent i środek konserwujący, 1 x 19 ml.
- 2a Odczynnik ED:** Zawiera ED (mikrobiologiczny) 52 µg/l sprzężony z cyklosporyną, czerwony chlorofenol-β-D-galaktopiranozyd 2,73 g/l, środki stabilizujące i środek konserwujący, 1 x 19 ml.
- 3 Odczynnik lizujący:** Zawiera sole buforujące, detergenty i środek konserwujący, 1 x 98 ml.
- 4 Kalibrator A dolnego zakresu:** Zawiera 0,45 g BSA i 0,063 µg cyklosporyny A.
- 5 Kalibrator B dolnego zakresu:** Zawiera 0,45 g BSA i 1,125 µg cyklosporyny A.

Materiały dodatkowe:

Dwie (2) puste butelki 20 ml do analizatora.

Wymagane materiały dodatkowe (nie dostarczone):

REF

100012

Opis zestawu

Zestaw kalibratorów górnego zakresu testu CEDIA Cyklosporyna PLUS

Automatyczny analizator biochemiczny

Kontrola(e) dostępna na rynku. W sprawie zalecanego odpowiedniego materiału kontroli należy skontaktować się z Działem Pomocy Technicznej firmy Thermo Fisher Scientific.

⚠ Ostrzeżenia oraz środki ostrożności

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności obowiązujących podczas pracy ze wszystkimi odczynnikami laboratoryjnymi.

NIEBEZPIECZEŃSTWO: Odczynnik proszkowy EA zawiera azcydek sodu o stężeniu ≤1,0% w/w. Odczynnik proszkowy EA zawiera 55% w/w albuminy surowicy bydlęcej (BSA). Odczynnik płynny EARB zawiera surowiec bydlęcy (płodowa) o stężeniu 0,75%, przeciwciało CsA (mysie monoklonalne) o stężeniu <0,1% i azcydek sodu o stężeniu <0,13%. Odczynnik płynny EDRB i odczynnik lizujący zawierają azcydek sodu o stężeniu <0,13%. Kalibratory zawierają albuminę surowicy bydlęcej (BSA) o stężeniu 18% i azcydek sodu o stężeniu ≤0,13%.

H317 – Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H334 – Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

H413 – W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

Unikać wdychania pyłu/mgły/par/rozpylonej cieczy. Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wnoszyć poza miejsce pracy. Unikać uwolnienia do środowiska. Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. W przypadku niedostatecznej wentylacji stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. W przypadku kontaktu ze skórą: Umyć dużą ilością wody z mydłem. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: W przypadku trudności z oddychaniem, wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: Skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUCI lub lekarzem. Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z przepisami lokalnymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi.

Przygotowanie i przechowywanie odczynników

Parametry testu zawiera karta zastosowań konkretnego urządzenia. Przygotować następujące roztwory, używając zimnych odczynników i buforów. Wyjmować zestaw z chłodzonego miejsca przechowywania (2–8 °C) tuż przed przygotowaniem roztworów roboczych.

W razie przypadkowego rozlania należy posprzątać i zutylizować materiał zgodnie ze standardową procedurą operacyjną obowiązującą w danym laboratorium oraz lokalnymi przepisami.

W przypadku otrzymania uszkodzonego opakowania należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem pomocy technicznej (dane kontaktowe znajdują się na odwrocie niniejszej ulotki dołączonej do opakowania).

Należy przygotowywać roztwory w podanej kolejności w celu ograniczenia ewentualnego skażenia.

Roztwór ED R2: Połączyć butelkę 2a (odczynnik ED) z butelką 2 (bufor rozpuszczenia ED) za pomocą jednego z załączonych łączników. Mieszać za pomocą delikatnego odwracania, upewniając się, że cały liofilizowany materiał z butelki 2a został przeniesiony do butelki 2. **Unikać tworzenia piany.** Butelkę 2a i łącznik odłączyć od butelki 2 i wyrzucić. Zamknąć korkiem butelkę 2 i pozostawić na około 5 minut w temperaturze pokojowej (15–25 °C). Ponownie wymieszać. Zapiąć na etykiecie butelki datę rozpuszczenia. Umieścić butelkę bezpośrednio w komorze odczynników analizatora lub w chłodzonym miejscu przechowywania (2–8 °C) i pozostawić na 15 minut przed użyciem.

Roztwór EA R1: Połączyć butelkę 1a (odczynnik EA) z butelką 1 o pojemności 70 ml (bufor rozpuszczenia EA) za pomocą jednego z załączonych łączników. Mieszać za pomocą delikatnego odwracania, upewniając się, że cały liofilizowany materiał z butelki 1a został przeniesiony do butelki 1. **Unikać tworzenia piany.** Odłączyć butelkę 1a od łącznika. Wyrzucić butelkę 1a.

Zamknąć korkiem napełnioną butelkę 1 i pozostawić na około 5 minut w temperaturze pokojowej (15–25 °C). Ponownie delikatnie wymieszać. Zapiąć na etykiecie butelki datę rozpuszczenia. Umieścić butelkę bezpośrednio w komorze odczynników analizatora lub w chłodzonym miejscu przechowywania (2–8 °C). Pozostawić odczynnik w analizatorze przez co najmniej 15 minut przed użyciem.

Na wypadek niemożności stosowania w użytkowanym analizatorze butelki 70 ml (butelka 1) dołączono dwie (2) mniejsze, puste butelki w kształcie trapezoidalnym. Przełać zawartość większej butelki 1 po równo do każdej z 2 mniejszych butelek.

Odczynnik lizujący: Odczynnik lizujący jest w postaci płynnej i nie wymaga rozpuszczenia. Przed każdym użyciem należy wymieszać zawartość butelki poprzez jej delikatne odwrócenie 2–3 razy. Zapiąć na etykiecie butelki datę otwarcia odczynnika lizującego. Zdjąć korek i przełać żądaną ilość odczynnika lizującego do naczynia na próbkę wskazanego w odpowiedniej instrukcji użycia testu CEDIA Cyclosporine PLUS.

Wykorzystanie kodu paskowego: Kody paskowe na butelkach odczynników są przeznaczone dla testu dolnego zakresu. Na etykietach odczynników znajduje się dedykowany systemowy kod paskowy, który większość analizatorów zignoruje w przypadku nierozpoznania. Jeśli analizator zwróci kod błędu, na kodzie paskowym należy umieścić taśmę w jednolitym kolorze. Jeśli potrzebna jest pomoc, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej.

UWAGA 1: Komponenty testu dostarczone w tym zestawie są przeznaczone do wykorzystania jako jeden integralny zestaw. **Nie mieszać komponentów pochodzących z różnych serii.**

UWAGA 2: Należy unikać skażenia krzyżowego odczynników poprzez zakładanie właściwych korków na właściwe butelki odczynników. Roztwór R2 (ED) powinien mieć barwę pomarańczowo-żółtą. Czerwona lub fioletowo-czerwona barwa wskazuje na skażenie odczynnika i należy go usunąć.

UWAGA 3: Przed rozpoczęciem testu roztwory R1 i R2 muszą być w temperaturze komory przechowywania odczynnika analizatora. Dodatkowe informacje podano w instrukcji obsługi danego analizatora.

UWAGA 4: Przygotować roztwór R2 przed roztworem R1.

UWAGA 5: Aby zapewnić trwałość rozpuszczonego odczynnika EA, należy chronić go przed dłuższą ekspozycją na jasne światło. Odczynnik należy przechowywać w temperaturze od 2 do 8 °C. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Terminy ważności nieotwartych komponentów testu podano na pudełku lub etykietach butelek.

Roztwór R1: Trwałość po umieszczeniu w chłodzonej komorze analizatora lub w temperaturze 2–8 °C wynosi 60 dni.

Roztwór R2: Trwałość po umieszczeniu w chłodzonej komorze analizatora lub w temperaturze 2–8 °C wynosi 60 dni.

Odczynnik lizujący: 60 dni w temperaturze 2–30 °C.

Kalibratory: 60 dni w temperaturze 2–8 °C.

Pobieranie i postępowanie z próbkami

Należy stosować krew pełną z EDTA.²² Należy podjąć środki ostrożności, aby zachować integralność próbki od momentu pobrania do wykonania testu. Probki należy oznakować, podając godzinę pobrania krwi i godzinę ostatniego podania leku. Probki powinny być zamknięte korkami i badane w ciągu 7 dni, jeśli są przechowywane w temperaturze 2–8 °C lub w ciągu miesiąca, jeśli są przechowywane w –20 °C. Unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania. Nie powodować spieniania próbek.

Przygotowanie próbki

1. Pozostawić kalibratory, kontrole i próbki pacjentów do osiągnięcia temperatury pokojowej.
2. Przed użyciem delikatnie, lecz dokładnie wymieszać próbkę (kalibratory, kontrole lub próbkę pacjenta).
3. Przenieść za pomocą pipety dokładnie 100 µl próbki do naczynia na próbkę.
4. Za pomocą pipety wielokrotnej dodać dokładnie 400 µl odczynnika lizującego CEDIA Cyklosporyna PLUS do każdego naczynia na próbkę.
5. Mieszać każde naczynie na mieszkadle przez 2–5 sekund.
6. Umieścić naczynia z próbkami w analizatorze i wykonać test.

Hemolizat w naczyniu na próbkę w temperaturze 15–25 °C zachowuje trwałość przez 1,5 godziny.²³

Test CEDIA Cyklosporyna PLUS jest przeznaczony do stosowania na automatycznych klinicznych analizatorach biochemicznych. Dane dotyczące wydajności zastosowania są przechowywane w firmie Microgenics Corporation, wchodzącej w skład firmy Thermo Fisher Scientific.²³

Procedura analityczna

W celu uzyskania parametrów aplikacji należy skontaktować się z firmą Thermo Fisher Scientific.

Kalibracja

Test CEDIA Cyklosporyna PLUS przy użyciu odpowiednich kalibratorów zestawu CEDIA Cyklosporyna PLUS tworzy liniową krzywą wzorcową. Za pomocą oprogramowania analizatora można uzyskać redukcję danych wyliczoną z regresji liniowej metodą najmniejszych kwadratów. Należy sprawdzić kalibrację testu poprzez wykonanie testu kontroli dostępnych na rynku o ustalonych zakresach odzysku dla testu CEDIA Cyklosporyna PLUS.

UWAGA: Karty przydzielenia wartości kalibratorów znajdują się w każdym zestawie kalibratorów. Przed zastosowaniem nowego zestawu kalibratorów należy sprawdzić parametry chemiczne, aby upewnić się, że stężenia kalibratorów odpowiadają wartościom na kartach przypisania wartości.

Częstotliwość kalibracji

Zaleca się wykonywanie ponownej kalibracji

- Po zmianie butelki odczynnika.
- Po zmianie serii kalibratora lub odczynnika.
- Po przeprowadzeniu comiesięcznej konserwacji analizatora.
- W razie potrzeby po wykonaniu procedur kontroli jakości.

Rejestrowany zakres

Dolny zakres rejestrowany testu wynosi od 25 ng/ml do 450 ng/ml. Minimalne wykrywalne stężenie testu CEDIA Cyklosporyna PLUS wynosi 25 ng/ml.

Górny zakres rejestrowany testu wynosi od 450 ng/ml do 2000 ng/ml.

Próbki poza zakresem

Próbki o większym stężeniu niż kalibrator górnego zakresu testu Cyklosporyna PLUS mogą być podawane jako > 2000 ng/ml rozcieńczone, w stosunku jedna część oryginalnej próbki i jedna część krwi pełnej niezawierającej cyklosporyny, podanej lizie, a następnie ponownie zbadane. Jeśli w laboratorium wykonywany jest tylko test dolnego zakresu stężeń cyklosporyny, próbki poza zakresem mogą być rozcieńczone w stosunku jedna część oryginalnej próbki i 3 części pełnej krwi niezawierającej cyklosporyny, poddane lizie, a następnie ponownie zbadane.

1. Przed użyciem należy delikatnie, lecz dokładnie wymieszać próbkę.
2. Przeprowadzić rozcieńczenie poprzez zmieszanie jednej objętości próbki pacjenta z jedną objętością krwi pełnej wolnej od cyklosporyny LUB trzema objętościami krwi pełnej wolnej od cyklosporyny.
3. Za pomocą pipety wielokrotnej dodać dokładnie 400 µl odczynnika lizującego CEDIA Cyklosporyna PLUS do każdego naczynia na próbkę.
4. Mieszać każde naczynie na mieszadło przez 2–5 sekund.
5. Umieścić naczyni(e) z próbkami w analizatorze i ponownie wykonać test.

Wartość uzyskaną w ponownie wykonanym teście należy obliczyć w następujący sposób:

$$\text{Wartość rzeczywista} = \text{współczynnik rozcieńczenia} \times \text{wartość rozcieńczona}$$

$$\text{Współczynnik rozcieńczenia} = \frac{(\text{objętość próbki} + \text{objętość krwi pełnej niezawierającej cyklosporyny})}{\text{objętość próbki}}$$

Wyniki próbek o wartości poniżej minimalnego wykrywalnego stężenia testu CEDIA Cyklosporyna PLUS powinny być podawane jako < 25 ng/ml.

Kontrola jakości i kalibracja

Każde laboratorium powinno ustalić własną częstotliwość kontroli.

Zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną każdego dnia, w którym badane są próbki pacjentów, i zawsze gdy wykonywana jest kalibracja należy wykonać co najmniej dwa testy w ramach kontroli jakości (odpowiadające dolnym i górnym kryteriom decyzji odnośnie leczenia). Monitorować wartości kontroli w zakresie trendów lub zmian. W razie wykrycia trendów lub zmian, lub braku odzysku określonego zakresu kontroli należy wykonać przegląd wszystkich parametrów działania. W sprawie dodatkowej pomocy i zaleceń odnośnie odpowiedniego materiału kontroli należy skontaktować się z Działem Pomocy Technicznej firmy Thermo Fisher Scientific. Wszystkie wymagania kontroli jakości powinny być wykonywane zgodnie z przepisami lokalnymi, regionalnymi lub państwowymi lub warunkami akredytacji.

UWAGA: Po zamianie serii odczynnika należy ponownie ocenić wartości docelowe kontroli i zakresy.

Wyniki i oczekiwane wartości

Szczegółowe informacje dotyczące obliczeń podano w odpowiedniej instrukcji obsługi lub protokole danego analizatora.

Ograniczenia²³

Nie ustalono działania testu CEDIA Cyklosporyna PLUS z pyłami ustrojowymi innymi niż ludzka krew pełna pobrana na EDTA.

Kryterium: Odzysk ± 15 ng/ml początkowej wartości przy stężeniu < 150 ng/ml lub ± 10% stężenia początkowej wartości > 150 ng/ml.

Żółtaczka: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń do 60 mg/dl (indeks I) (przybliżone stężenie niesprężonej bilirubiny: 60 mg/dl).

Lipemia: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez trójglicerydy o stężeniu do 1000 mg/dl. Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez cholesterol o stężeniu do 300 mg/dl. Duże stężenia trójglicerydów i cholesterolu mogą powodować niskie oznaczenie ilościowe.

Białko całkowite: < 10 g/dl nie powoduje zakłóceń. Duże stężenia białka mogą powodować niskie oznaczenie ilościowe. Czynniki reumatoidalny: < 100 j.m./ml nie powoduje zakłóceń.

Zakres hematokrytu: od 30,5% do 53,5%. Większe stężenia hematokrytu mogą powodować niskie oznaczenie ilościowe. W przypadku pacjentów z kumulacją metabolitów, np. pacjentów z upośledzeniem czynności wątroby, nieoczekiwanie dużymi wartościami leku lub wydłużeniem czasu (obecności leku) po podaniu leku, oprócz zastosowania tego testu można zastosować pomocniczo metodę diagnostyczną o dużej swoistości dla substancji wyjściowej, np. HPLC.

Częstość pacjentów z przeciwciałami przeciwko β-galaktazydzie E. coli jest bardzo mała. Niemniej jednak niektóre próbki zawierające takie przeciwciała mogą powodować sztucznie zawyżone wyniki, które nie odpowiadają profilowi klinicznemu. W takim przypadku w sprawie pomocy należy skontaktować się z Działem Pomocy Technicznej firmy Thermo Fisher Scientific. Tak jak w przypadku wszystkich testów wykorzystujących mysie przeciwciała istnieje prawdopodobieństwo zakłócenia spowodowanego przez ludzkie przeciwciała przeciwko mysim przeciwciałom (HAMA) obecnym w próbce, które mogą sztucznie zawyżać wyniki. Należy zwracać uwagę, aby pobranie próbek krwi następowało w jednakowych odstępach czasu po podaniu cyklosporyny.

Oczekiwane wartości

Nie istnieje sztywny zakres terapeutyczny cyklosporyny w krwi pełnej. Złożoność stanu zdrowia, zróżnicowanie osobnicze w zakresie czułości na działanie immunosupresyjne i nefrotoksyczne działanie cyklosporyny, równoczesne podawanie innych leków immunosupresyjnych, typ przeszczepu, odległość w czasie od przeszczepu oraz szereg innych czynników przyczyniają się do zróżnicowanych wymagań w zakresie optymalnego stężenia cyklosporyny we krwi. Pojedynczych wartości cyklosporyny nie można używać jako jedynego wskaźnika do wprowadzania zmian w schemacie leczenia. Każdego pacjenta należy poddać dokładnej ocenie klinicznej przed wprowadzeniem modyfikacji dawki leku, a każdy użytkownik powinien ustalić własne zakresy stężeń leku na podstawie doświadczenia klinicznego.²⁴ Zakresy są różne zależnie od użytego testu dostępnego na rynku. Nie należy stosować współczynników przeliczania do prognozowania wartości u poszczególnych pacjentów. Zaleca się konsekwentne stosowanie jednego testu dla danego pacjenta w związku ze zmiennymi schematami reaktywności krzyżowej z metabolitami.

Swoista charakterystyka działania²³

Poniżej przedstawiono typowe dane działania testu uzyskane na analizatorze Hitachi 911. Wyniki uzyskane w poszczególnych pracowniach analitycznych mogą się różnić od podanych parametrów działania. Dodatkowe informacje dotyczące działania na określonym analizatorze — zob. protokół użycia tego analizatora.

Precyzja

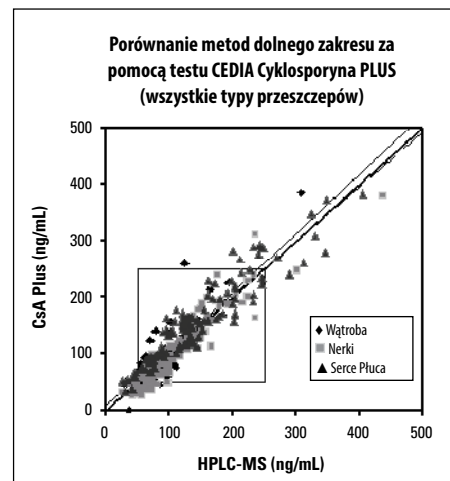
Badania pomiarów precyzji za pomocą pakietów odczynników, zbiorczych próbek krwi pełnej i kontroli krwi pełnej przyniosły następujące wyniki w ng/ml: Analizator Hitachi 911 (37°C), zmodyfikowane doświadczenie z powtórzeniami NCCLS, EPS-T (3 powtórzenia, codziennie przez 21 dni).

Test dolnego zakresu			W jednej serii testu		Łącznie	
Próbka	n	\bar{x}	Odchylenie standardowe (SD)	CV%	Odchylenie standardowe (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
Próbka zbiorcza o małym stężeniu	63	54	4,7	8,8	6,6	12,2
Próbka zbiorcza o dużym stężeniu	63	434,7	6,7	1,6	19,4	4,5

Test górnego zakresu			W jednej serii testu		Łącznie	
Próbka	n	\bar{x}	Odchylenie standardowe (SD)	CV%	Odchylenie standardowe (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
Próbka zbiorcza o małym stężeniu	63	472	22,8	4,8	35,1	7,5
Próbka zbiorcza o dużym stężeniu	63	1695	39,2	2,3	87,3	5,2

Porównanie metod — dolny zakres testu

Badania porównujące test Microgenics CEDIA Cyclosporine PLUS (y) z HPLC-MS (x) w czterech ośrodkach dostarczyły następującą korelację.



Test dolnego zakresu CEDIA Cyklosporyna PLUS

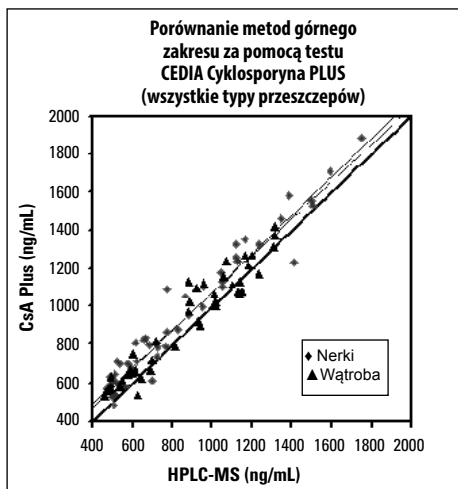
Badania porównujące test Microgenics CEDIA Cyklosporyna PLUS (y) z FPIA (x), EMIT® (x) i HPLC-MS (x) w czterech ośrodkach dostarczyły następujące korelacje.

Typ przeszczepu	Oś x	Regresja liniowa $S_{y,x}$	$S_{y,x}$ Deminga	r	n	Zakres
Wszystkie	HPLC-MS	$0,97x + 827$	$1,05x - 227$	0,93	311	25–386 ng/ml
Wszystkie	EMIT	$1,05x + 616$	$1,09x + 211$	0,97	298	33–412 ng/ml
Wszystkie	Axsym	$1,00x + 219$	$1,05x - 513$	0,95	296	35–368 ng/ml
Wszystkie	TDx	$0,87x - 1820$	$0,91x - 2515$	0,95	298	9–386 ng/ml
Serce/płuca	HPLC-MS	$0,87x + 3226$	$0,93x + 2426$	0,94	109	31–383 ng/ml
Wątroba	HPLC-MS	$1,10x + 0,925$	$1,30x - 1826$	0,88	80	41–386 ng/ml
Nerki	HPLC-MS	$1,02x - 924$	$1,09x - 1716$	0,94	122	25–379 ng/ml

Populacja metody porównania testu dolnego zakresu z HPLC-MS obejmuje: 311 próbek od pacjentów w wieku od 18 do 77 lat. Próbkę obejmują 107 ostrych, 195 przewlekłych, 109 przeszczepów serca-płuca, 80 wątroby i 122 nerek pobranych od 228 pacjentów przy najniższym stężeniu leku.

Porównanie metod — górny zakres testu

Badania porównujące test Microgenics CEDIA Cyklosporyna PLUS (y) z HPLC-MS (x) dostarczyły następującą korelację.



Test górnego zakresu CEDIA Cyklosporyna PLUS

Badania porównujące test Microgenics CEDIA Cyklosporyna PLUS (y) z FPIA (x), EMIT® (x) i HPLC-MS (x) w czterech ośrodkach dostarczyły następujące korelacje.

Typ przeszczepu	Oś x	Regresja liniowa $S_{y,x}$	$S_{y,x}$ Deminga	r	n	Zakres
Wszystkie	HPLC-MS	$0,97x + 9881$	$1,01x + 7157$	0,97	93	486–1882 ng/ml
Wszystkie	EMIT	$1,00x + 1228$	$1,00x + 1120$	0,99	343	12–1979 ng/ml
Wszystkie	Axsym	$1,04x - 230$	$1,05x - 421$	0,99	344	3–1857 ng/ml
Wszystkie	TDx	$0,96x - 3336$	$0,97x - 3526$	0,99	334	15–1932 ng/ml
Wątroba	HPLC-MS	$0,94x + 9973$	$0,98x + 7052$	0,96	46	529–1417 ng/ml
Nerki	HPLC-MS	$0,99x + 10782$	$1,02x + 8458$	0,97	47	486–1882 ng/ml

Populacja metody porównania testu górnego zakresu z HPLC-MS obejmuje: 93 próbek od pacjentów w wieku od 30 do 72 lat. Próbkę obejmują 83 ostrych, 8 przewlekłych, 46 przeszczepów wątroby i 47 przeszczepów nerek, pobranych od 21 pacjentów w ciągu 8 godzin po podaniu leku.

Liniowość

W celu oceny liniowości zbiorczą próbkę pacjentów o dużym stężeniu cyklosporyny rozcieńczono próbką krwi pełnej nie zawierającej leku dla testu dolnego zakresu; dla testu górnego zakresu do rozcieńczenia użyto zbiorczej próbki zawierającej cyklosporynę. Następnie oznaczono procentowo odzysk przez podział wartości otrzymanej przez wartość oczekiwaną. Oczekiwane wartości wygenerowano z nachylenia i wyrazu wolnego regresji wartości otrzymanych z testu.

Próbka o dużym stężeniu, %	Dolny zakres testu			Górny zakres testu		
	Oczekiwana wartość (ng/ml)	Uzyskana wartość (ng/ml)	% odzysku	Oczekiwana wartość (ng/ml)	Uzyskana wartość (ng/ml)	% odzysku
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

Odzysk

W celu oceny odzysku testu cyklosporyny dodano do 21 próbek krwi pełnej od zdrowych osób. W przypadku każdego zestawu 21 próbek dodano ilości cyklosporyny podane w tabeli. Procentowy odzysk określono przez podział średniej dawki każdego zestawu 21 próbek z dodaną cyklosporyną przez teoretyczną wartość dodanej cyklosporyny w próbkach.

Dolny zakres testu			Górny zakres testu		
N	21	21	N	21	21
Wartość docelowa, ng/ml	150	300	Wartość docelowa, ng/ml	600	1600
x (ng/ml)	141	308	x (ng/ml)	590	1570
% odzysku	94	103	% odzysku	98	98

Swoistość

Następujące substancje badano w zakresie reaktywności krzyżowej w teście CEDIA Cyklosporyna PLUS za pomocą dodania in vitro do próbek krwi pełnej zawierających około 200 ng/ml cyklosporyny.

Substancja	Badane stężenie (ng/ml)	Reaktywność krzyżowa, %
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

Substancja	Badane stężenie (ng/ml)	Dawka zmierzona (ng/ml)	Reaktywność krzyżowa, %
Acetaminofen	100000	-0,2	< 0,015
Ampicylina	100000	0,4	< 0,015
Azatiopryna	100000	-5,2	< 0,015
Chloramfenikol	100000	-1,3	< 0,015
Chlorowodorek prokainamidu	100000	-2,8	< 0,015
Chlorowodorek wankomycyny	100000	0	< 0,015
Cymetydyna	100000	1,7	< 0,015
Digitoksyna	100000	-1,2	< 0,015
Digoksyna	100000	-1,4	< 0,015
Dipirydamol	100000	-4,1	< 0,015
Dizopiramid	100000	-3,3	< 0,015
Erytromycyna	100000	-2,8	< 0,015
Fenobarbital	100000	-10,1	< 0,015
Fenytoina	100000	-3,1	< 0,015
FK506	20000	3,8	< 0,075
Furosemid	100000	-4,2	< 0,015
Gentamycyna	100000	-1,1	< 0,015
Kanamycyna	100000	0,1	< 0,015
Karbamazepina	100000	-2,8	< 0,015
Ketokonazol	100000	-0,9	< 0,015
Kwas mykofenolowy	50000	-4,7	< 0,030
Kwas salicylowy	100000	-0,7	< 0,015
Kwas walproinowy	100000	-1,3	< 0,015
Lidokaina	100000	-1,6	< 0,015
Metylprednizolon	100000	-0,6	< 0,015
N-acetyloprokainamid	100000	-1,3	< 0,015
Penicylina-G (sól sodowa)	100000	-0,8	< 0,015
Prazosyna	100000	-0,7	< 0,015
Prednizolon	100000	-2,4	< 0,015
Prednizon	100000	-0,8	< 0,015
Rapamycyna	5000	-4,8	< 0,300
Ryfampicyna	60000	-7,3	< 0,025
Siarczan amikacyny	100000	0,7	< 0,015
Siarczan chinidyny	100000	-1,6	< 0,015
Siarczan kanamycyny B	100000	0,7	< 0,015
Siarczan morfiny	100000	-5	< 0,015
Siarczan streptomycyny	100000	1,1	< 0,015
Spektynomycyna	100000	-0,5	< 0,015
Teofilina	100000	0,2	< 0,015
Tobramycyna	100000	0,2	< 0,015
Triamteren	100000	-1,6	< 0,015
Werpamil	100000	-0,3	< 0,015

Czułość

Minimalne stężenie wykrywalne w teście CEDIA Cyclosporina PLUS wynosi 25 ng/ml. Wartość oznaczono poprzez obliczenie stężenia cyklosporiny, które daje odpowiedź równą dwóm standardowym odchyleniom kalibratora dolnego zakresu. Czułość użytkowa, definiowana jako najniższe stężenie, przy którym 20% współczynnik zmienności (CV) pomiędzy testami wynosi 40 ng/ml.

Piśmiennictwo

- 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. Rugstand, 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. 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).

Słowniczek:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA

Dział Pomocy Technicznej i Obsługi

Klienta na terenie Stanów Zjednoczonych:
1-800-232-3342



EC REP

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



Aktualizacje ulotki są dostępne na:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Inne kraje:

Należy się skontaktować z najbliższym przedstawicielem firmy Thermo Fisher Scientific.

CEDIA jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Roche Diagnostics.

10007380-15-PL
2018 01

Thermo
SCIENTIFIC