

Ensaio CEDIA® Cyclosporine PLUS

Thermo
SCIENTIFIC

IVD For In Vitro Diagnostic Use

Rx Only

REF 100147

Aplicação

O ensaio CEDIA® Cyclosporine PLUS destina-se à determinação quantitativa in vitro de ciclosporina em sangue total humano. São utilizados analisadores automatizados de química clínica como meios auxiliares para gestão da terapêutica com ciclosporina em transplantes renais, hepáticos e cardíacos.

Resumo e Explicação do Teste

A ciclosporina é um hendeptéide cíclico hidrofóbico, de origem fúngica, que possui propriedades imunossupressoras.^{1,2} Apesar do seu mecanismo de acção ainda estar a ser investigado, a ciclosporina parece influenciar o metabolismo dos linfócitos T-indutores e dos linfócitos T-supressores, resultando no enfraquecimento do sistema imunitário.^{3,5} As propriedades imunossupressoras da ciclosporina tornam-na um fármaco muito eficaz para tratamento de certas doenças auto-imunes e redução da incidência de rejeição dos tecidos após o transplante de órgãos. A terapêutica com ciclosporina tem uma segurança e eficácia máximas num intervalo de concentrações reduzido, podendo originar vários efeitos adversos.^{6,7} Os efeitos adversos mais críticos consistem na rejeição de órgãos devido a dosagem inadequada ou nefrotoxicidade e hepatotoxicidade, cuja probabilidade aumenta com a concentração do fármaco.⁸⁻¹¹ A ciclosporina é administrada por via oral ou intravenosa. Uma vez que a absorção e o metabolismo hepático do fármaco variam muito de doente para doente, a correlação dos níveis sanguíneos com a dose administrada é baixa.¹² Os factores que afectam as concentrações sanguíneas de ciclosporina incluem a natureza do transplante, a idade e o estado geral do doente e a administração simultânea de outros fármacos, como a carbamazepina, a fenitoína, o fenobarbital, a eritromicina, a rifampicina, a cimetidina e o cetoconazol.¹³⁻¹⁷ A monitorização da ciclosporina no transplante de órgãos é essencial para maximizar os efeitos imunossupressores nos doentes.^{18,20}

A medição das concentrações de ciclosporina no sangue total, associada a outros dados laboratoriais e à avaliação clínica, constitui a melhor abordagem para maximizar a imunossupressão e minimizar os efeitos secundários nos receptores de transplantes de órgãos.

O ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS utiliza a tecnologia de ADN recombinante (Patente dos E.U.A. N.º 4708929) para produzir um sistema de imunoensaio enzimático homogéneo único.²¹ O ensaio baseia-se na enzima bacteriana β-galactosidase, separada em dois fragmentos inactivos, através de engenharia genética. Estes fragmentos voltam a associar-se espontaneamente formando enzimas totalmente activas, as quais, no formato do ensaio, fragmentam um substrato e produzem uma alteração de cor que pode ser medida através de espectrofotometria.

No ensaio, a substância analisada existente na amostra compete com a substância analisada conjugada com um fragmento inactivo da β-galactosidase para o local de ligação de anticorpos. Se a substância analisada existir na amostra, liga-se aos anticorpos, deixando os fragmentos de enzima inactivos livres para formar enzimas activas. Se a substância analisada não existir na amostra, os anticorpos ligam-se à substância analisada conjugada do fragmento inactivo, inibindo a reassociação dos fragmentos de β-galactosidase inactivos. Assim, não se formam enzimas activas. A quantidade de enzima activa formada e a alteração da absorvância resultante são directamente proporcionais à quantidade da substância analisada presente na amostra.

Reagentes

- 1 Tampão de Reconstituição do AE:** contém MOPS [tampão de 3-(N-morfolino) ácido propanesulfónico], 0,50 µg/mL de anticorpos monoclonais de ratinho anti-ciclosporina, estabilizador e conservante, 1 x 41 mL.
- 1a Reagente AE:** contém 0,171 g/L de Aceitador de Enzimas (microbiano), sais de tampão e conservante, 1 x 41 mL.
- 2 Tampão de Reconstituição do DE:** contém MES [tampão de 2-(N-morfolino) ácido etanosulfónico], detergente e conservante, 1 x 19 mL.
- 2a Reagente DE:** contém 52 µg/L de Dador de Enzimas (microbiano) conjugado com ciclosporina, 2,73 g/L de vermelho de clorofenol-β-D-galactopiranosídeo, estabilizadores e conservante, 1 x 19 mL.
- 3 Reagente de Lise:** contém sais de tampão, detergentes e conservante, 1 x 98 mL.
- 4 Calibrador de Intervalo Baixo A:** contém 0,45 g BSA e 0,063 µg Cyclosporine A.
- 5 Calibrador de Intervalo Baixo B:** contém 0,45 g BSA e 1,125 µg Cyclosporine A.

Materiais Adicionais:

Dois (2) frascos de analisador de 20 ml vazios.

Materiais Adicionais Necessários (mas não fornecidos):

REF	Descrição do kit
100012	Kit de Calibrador CEDIA Cyclosporine PLUS de Intervalo Alto

Analisador automatizado de química clínica
Controlo(s) Disponível(is) no Mercado. Consulte a Assistência Técnica da Thermo Fisher Scientific, para recomendações sobre os materiais de controlo adequados.

⚠️ Precauções e Advertências

Utilize as precauções habituais referentes à manipulação de todos os reagentes laboratoriais.

PERIGO: o reagente em pó do aceitador da enzima (EA) contém ≤ 1,0% w/w de azida de sódio. O reagente em pó do doador da enzima (ED) contém 55% w/w de soro-albumina bovina (BSA). O reagente líquido do tampão de reconstituição do aceitador da enzima (EARB) contém 0,75% de soro bovino (fetal), < 0,1% de anticorpo CsA (monoclonal de rato) e < 0,13% de azida de sódio. Os reagentes líquidos do tampão de reconstituição do doador da enzima (EDRB) e de lise contém < 0,13% de azida de sódio. Os calibradores contêm 18% de soro-albumina bovina (BSA) e ≤ 0,13% de azida de sódio.

H317 - Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

H334 - Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia, de asma ou dificuldades respiratórias.

H412 - Prejudicial para a vida aquática com efeitos duradouros.

EUH032 - O contacto com ácidos liberta gás muito tóxico.

Evitar respirar pó/névoas/vapores/aerossóis. A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. Evitar libertação para o meio ambiente. Usar luvas de protecção/protecção ocular/protecção facial. Em caso de ventilação inadequada, usar protecção respiratória. Se entrar em contacto com a pele: lavar com sabão e água abundantes. EM CASO DE INALAÇÃO: em caso de dificuldade respiratória, retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração. Em caso de irritação cutânea ou prurido: consultar um médico. Em caso de sintomas respiratórios: contactar um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Lavar a roupa contaminada antes de voltar a usar. Eliminar o conteúdo/recipiente em local conforme os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais.

Preparação e Conservação dos Reagentes

Consulte a folha de aplicação do instrumento específica para obter os parâmetros do ensaio. Prepare as soluções seguintes utilizando reagentes e tampões frios. Retire o kit do armazenamento refrigerado (2-8 °C) imediatamente antes da preparação das soluções de trabalho.

No caso de derrame acidental, limpe e elimine o material de acordo com os Procedimentos Operativos Normalizados (PON) do laboratório e os regulamentos locais e estatais.

No caso de receber uma embalagem danificada, contacte o representante de apoio ao cliente (consulte o verso deste folheto).

Prepare as soluções na ordem seguinte para minimizar a possibilidade de contaminação.

Solução do dador de enzimas R2: utilizando um dos adaptadores fornecidos, ligue o Frasco 2a (Reagente DE) ao Frasco 2 (Tampão de Reconstituição do DE). Inverta suavemente para misturar, certificando-se de que todo o material liofilizado do Frasco 2a é transferido para o Frasco 2. **Evite a formação de espuma.** Separe o Frasco 2a e o adaptador do Frasco 2 e elimine. Tape o Frasco 2 e deixe repousar durante cerca de 5 minutos à temperatura ambiente (15 - 25°C). Misture novamente. Registe a data de reconstituição no rótulo do frasco. Coloque o frasco directamente no compartimento de reagentes do analisador ou no compartimento de conservação refrigerado (2 - 8°C). Deixe repousar 15 minutos antes de utilizar.

Solução do aceitador de enzimas R1: utilizando um dos adaptadores fornecidos, ligue o Frasco 1a (Reagente AE) ao Frasco 1 de 70 mL (Tampão de Reconstituição do EA). Inverta suavemente para misturar, certificando-se de que todo o material liofilizado do Frasco 1a é transferido para o Frasco 1. **Evite a formação de espuma.** Separe o Frasco 1a do adaptador. Elimine o Frasco 1a.

Tape o Frasco 1 cheio e deixe repousar durante cerca de 5 minutos à temperatura ambiente (15-25°C). Volte a misturar suavemente. Registe a data de reconstituição no rótulo do frasco. Coloque o frasco directamente no compartimento de reagentes do analisador ou no compartimento de conservação refrigerado (2 - 8°C). Deixe o reagente no analisador durante, pelo menos, 15 minutos antes de utilizá-lo.

Se o seu analisador não tiver capacidade para o frasco de 70 ml (frasco 1), foram incluídos dois (2) frascos de estilo trapezoidal mais pequenos vazios. Decante o conteúdo do frasco 1 maior para cada um dos 2 frascos mais pequenos dividindo o volume igualmente entre os dois frascos.

Reagente de Lise: o reagente de lise é líquido, não sendo necessária a reconstituição. Antes de cada utilização, misture o conteúdo do frasco, invertendo-o suavemente 2 a 3 vezes. Registe a data de abertura do reagente de lise no rótulo do frasco. Retire a tampa e distribua a quantidade do reagente de lise necessária para um recipiente de amostras, conforme especificado no folheto de aplicação do ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS em questão.

Utilização do código de barras: Os códigos de barras nos frascos de reagentes são para o Low Range Assay. Os rótulos de reagente têm um código de barras de sistema dedicado que a maior parte dos analisadores irá ignorar, se não for reconhecido. Se o analisador enviar um código de erro, cubra o código de barras com fita de cor sólida. Contacte os serviços técnicos para obter assistência, se necessário.

NOTA 1: os componentes fornecidos neste kit destinam-se a serem utilizados como uma unidade integral. **Não misture os componentes de lotes diferentes.**

NOTA 2: evite a contaminação cruzada de reagentes, fazendo corresponder de forma correcta as tampas aos frascos de reagentes. A solução R2 (Dador de Enzimas) deve ter uma cor amarela-alaranjada. Uma cor vermelha ou púrpura-avermelhada indica que o reagente foi contaminado e tem de ser eliminado.

NOTA 3: antes de efectuar o ensaio, as soluções R1 e R2 têm de estar à temperatura de conservação do compartimento de reagentes do analisador. Consulte o folheto de aplicação específico do analisador, para obter mais informações.

NOTA 4: prepare a solução R2 antes da solução R1.

NOTA 5: para garantir a estabilidade do reagente AE reconstituído, proteja-o da exposição contínua e prolongada à luz intensa.

ConsERVE os reagentes entre 2 e 8°C. **NÃO CONGELE.** Relativamente à estabilidade dos componentes não abertos, consulte o prazo de validade indicado nos rótulos da caixa ou dos frascos.

Solução R1: 60 dias refrigerada no analisador ou entre 2 e 8°C.

Solução R2: 60 dias refrigerada no analisador ou entre 2 e 8°C.

Reagente de Lise: 60 dias entre 2 e 30°C.

Calibrador: 60 dias entre 2 e 8°C.

Colheita e Manipulação das Amostras

Utilize sangue total tratado com EDTA.²² Deverá ter cuidado para preservar a integridade da amostra, desde o momento da colheita até ao momento em que é analisada. As amostras devem ser identificadas com a hora da colheita de sangue e a hora de administração da última dose do fármaco. As amostras devem ser tapadas e analisadas no prazo de 7 dias, quando conservadas entre 2 e 8°C, ou no prazo de 1 mês, quando conservadas a -20°C. Evite ciclos de congelação e descongelação repetidos. Não provoque a formação de espuma nas amostras.

Preparação das Amostras

1. Deixe os calibradores, controlos ou amostras dos doentes atingirem a temperatura ambiente.
2. Antes da utilização, misture totalmente a amostra, com cuidado (calibradores, controlos ou amostra do doente).
3. Pipete exactamente 100 µL de amostra para um recipiente de amostras.
4. Utilizando uma pipeta de repetição, adicione exactamente 400 µL de Reagente de Lise do ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS a cada recipiente de amostras.
5. Misture totalmente cada recipiente no vortex, durante 2 a 5 segundos.
6. Coloque os recipientes de amostras no instrumento e analise.

O hemolisado permanece estável no recipiente de amostras durante 1,5 horas, à temperatura de 15 - 25°C.²³

O ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS destina-se a ser utilizado em analisadores de química clínica automatizados. Os dados específicos sobre o desempenho do ensaio estão arquivados na Microgenics Corporation, uma divisão da Thermo Fisher Scientific.²³

Procedimento do Ensaio

Contacte a assistência técnica da Thermo Fisher Scientific para obter os parâmetros da aplicação.

Calibração

O ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS produz uma curva linear padrão, utilizando os Kits de Calibradores CEDIA Cyclosporine PLUS apropriados. Utilizando o software do analisador, poderá conseguir a redução de dados calculados a partir da menor regressão linear quadrada. Valide a calibração do ensaio, testando controlo(s) disponível(is) com intervalos de recuperação estabelecidos para o ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS.

NOTA: os cartões de atribuição dos valores dos calibradores são fornecidos em cada kit de calibradores. Antes de utilizar um novo kit de calibradores, verifique os seus parâmetros químicos para garantir que as concentrações do calibrador correspondem aos valores indicados no cartão de atribuição de valores.

Frequência da Calibração

A recalibração é recomendada

- Após a mudança de frasco de reagente.
- Após a mudança de lote do calibrador ou do reagente.
- Após a realização da manutenção mensal do instrumento.
- Conforme necessário, seguindo os procedimentos do controlo de qualidade.

Intervalo Relatável

O intervalo relatável para o Ensaio Baixo situa-se entre 25 ng/mL e 450 ng/mL. A concentração mínima detectável pelo ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS é de 25 ng/mL.

O intervalo relatável para o Ensaio Alto situa-se entre 450 ng/mL e 2.000 ng/mL.

Amostras Fora do Intervalo

As amostras que apresentem valores superiores aos valores que podem ser detectados pelo Calibrador Alto de Cyclosporine PLUS podem ser apresentadas como > 2.000 ng/mL ou podem ser diluídas na proporção de uma parte da amostra original para uma parte de sangue total sem ciclosporina. Em seguida, as amostras são lisadas e repetidas as análises. As amostras fora do intervalo só podem ser diluídas na proporção de uma parte da amostra original para três partes de sangue total sem ciclosporina, sendo depois lisadas e repetidas as análises, se o Ensaio de Intervalo Baixo de Ciclosporina for realizado no laboratório.

1. Antes de utilizar, misture totalmente a amostra, com cuidado.
2. Prepare a diluição misturando uma parte do volume da amostra do paciente e uma parte do volume de sangue total sem ciclosporina OU uma parte do volume da amostra do paciente e três partes do volume de sangue total sem ciclosporina.
3. Utilizando uma pipeta de repetição, adicione exactamente 400 µL de Reagente de Lise do ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS a cada recipiente de amostras.
4. Misture totalmente cada recipiente no vortex, durante 2 a 5 segundos.
5. Coloque o(s) recipiente(s) de amostras no instrumento e repita a análise.

O valor obtido nesta análise deve ser derivado da seguinte forma:

$$\text{Valor real} = \text{factor de diluição} \times \text{valor diluído}$$

$$\text{Factor de diluição} = \frac{(\text{volume da amostra} + \text{volume de sangue total sem ciclosporina})}{\text{volume da amostra}}$$

As amostras com valores abaixo da concentração mínima detectável pelo ensaio devem ser referidas como < 25 ng/mL.

Controlo de Qualidade e Calibração

Cada laboratório deverá estabelecer a sua frequência de controlo.

As boas práticas laboratoriais sugerem que sejam testados pelo menos dois níveis (pontos de decisão médica alto e baixo) de controlo de qualidade, nos dias em que são testadas amostras de doentes e sempre que for efectuada uma calibração. Monitorize os valores de controlo, relativamente a quaisquer tendências ou desvios. Caso sejam detectadas tendências ou desvios, ou o controlo não se encontre no intervalo especificado, reveja todos os parâmetros de funcionamento. Contacte a Assistência Técnica da Thermo Fisher Scientific, para obter assistência e recomendações sobre os materiais de controlo adequados. Todos os requisitos de controlo de qualidade devem ser implementados de acordo com os regulamentos locais, estatais e/ou federais ou requisitos de acreditação.

NOTA: volte a avaliar os alvos e intervalos de controlo, após uma mudança de lote do reagente.

Resultados e Valores Esperados

Consulte o manual do operador ou o protocolo específico do analisador em questão, para obter informações de cálculo pormenorizadas.

Limitações²³

O desempenho do ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS não foi estabelecido para outros fluidos corporais, além de sangue total humano com EDTA.

Crítério: recuperação de ±15 ng/mL em relação ao valor inicial de concentrações < 150 ng/mL ou ± 10% em relação aos valores iniciais de concentrações > 150 ng/mL.

Ictericia: não ocorreram interferências significativas até ao índice I de 60 (concentração aproximada de bilirrubina não conjugada: 60 mg/dL).

Lipemia: não ocorreram interferências significativas até um nível máximo de triglicéridos de 1000 mg/dL. Não ocorreram interferências significativas até um nível máximo de colesterol de 300 mg/dL. Níveis elevados de triglicéridos e de colesterol poderão resultar numa quantificação baixa.

Proteínas Totais: níveis < 10 g/dL não interferem com o ensaio. Níveis elevados de proteínas poderão resultar numa quantificação baixa.

Factor reumatóide: níveis < 100 UI/mL não interferem com o ensaio.

Intervalo do hematócrito: 30,5% a 53,5%. Níveis de hematócrito mais elevados poderão resultar numa quantificação baixa. Para os doentes que possam apresentar acumulação de metabolitos, por exemplo, doentes com diminuição da função hepática, com valores do fármaco inesperadamente elevados ou com aumento do período após a terapêutica, a utilização deste ensaio pode ser suportada por um método que seja altamente específico para o composto inicial, como a HPLC (High Profile Liquid Chromatography - Cromatografia líquida de perfil elevado).

A incidência de doentes com anticorpos para a β-galactosidase da E. coli é extremamente baixa. No entanto, algumas amostras que contenham estes anticorpos poderão produzir resultados artificialmente elevados, que não se enquadram no perfil clínico. Caso isto ocorra, contacte a Assistência Técnica ao Cliente da Thermo Fisher Scientific, para obter ajuda.

Tal como com qualquer outro ensaio que utilize anticorpos de rato, existe a possibilidade da interferência de anticorpos humanos anti-ratino (HAMA) na amostra, o que poderá originar resultados falsamente elevados. Deverá ter cuidado de forma a garantir que as amostras de sangue são colhidas em intervalos consistentes após a administração de ciclosporina.

Valores Esperados

Não existe um intervalo terapêutico fixo para a ciclosporina no sangue total. A complexidade do estado clínico, as diferenças individuais na sensibilidade aos efeitos imunossuppressores e nefrotóxicos da ciclosporina, a administração simultânea de outros imunossuppressores, o tipo de transplante, o tempo após o transplante e vários outros factores originarão diferentes necessidades para a obtenção de níveis sanguíneos óptimos de ciclosporina. Os valores de ciclosporina não podem ser utilizados como o único indicador para efectuar alterações do regime de tratamento. A situação clínica de cada doente deverá ser cuidadosamente avaliada, antes de serem efectuados ajustes de tratamento. Cada utilizador deverá estabelecer os seus intervalos, com base na experiência clínica.²⁴ Os intervalos variarão de acordo com o teste disponível no mercado que é utilizado. Os factores de conversão não devem ser utilizados para prever os valores de cada doente. É recomendada a utilização consistente do mesmo ensaio para cada doente, devido aos padrões variáveis de reactividade cruzada com metabolitos.

Características Específicas do Desempenho²³

Os dados do desempenho típico, obtidos no analisador Hitachi 911, são apresentados mais abaixo. Os resultados obtidos no seu laboratório poderão ser diferentes. Para obter mais dados sobre o desempenho específico do analisador, consulte o protocolo de aplicação específico do analisador.

Precisão

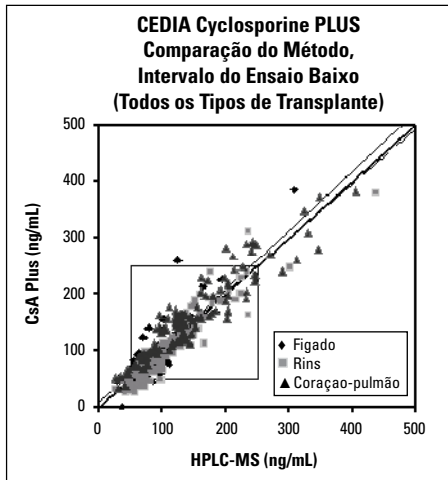
Em estudos de precisão medidos, utilizando reagentes embalados, sangue total de vários doentes e controlos de sangue total, foram obtidos os seguintes resultados em ng/mL: experiência de replicação modificada pelo NCCLS no analisador Hitachi 911 (37°C), EP5-T (3 replicados, diariamente durante 21 dias).

Ensaio de Intervalo Baixo			Intra-série		Total	
Amostra	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
Grupo com Níveis Baixos	63	54	4,7	8,8	6,6	12,2
Grupo com Níveis Altos	63	434,7	6,7	1,6	19,4	4,5

Ensaio de Intervalo Alto			Intra-série		Total	
Amostra	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
Grupo com Níveis Baixos	63	472	22,8	4,8	35,1	7,5
Grupo com Níveis Altos	63	1.695	39,2	2,3	87,3	5,2

Método de Comparação - Intervalo do Ensaio Baixo

As comparações efectuadas em quatro locais, utilizando o ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS da Microgenics (y) e a HPLC-MS (x) forneceram a seguinte correlação.



Ensaio de Intervalo Baixo CEDIA Cyclosporine PLUS

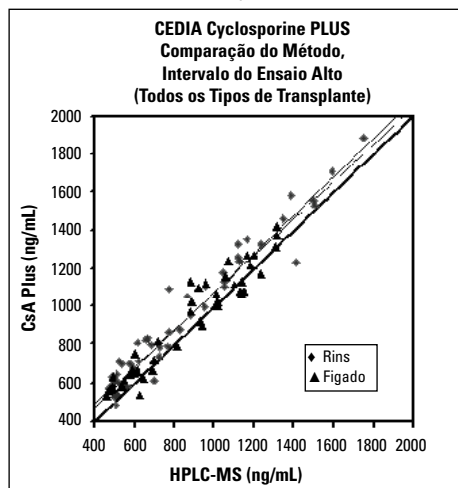
As comparações efectuadas em quatro locais, utilizando o ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS da Microgenics (y) e FPIA (Imunoensaio de polarização de fluorescência) (x), EMIT® (x) e HPLC-MS (x) forneceram as seguintes correlações.

Tipo de Transplante	Eixo x	Regressão Linear $S_{y,x}$	$S_{y,x}$ de Deming	r	n	Intervalo
Todas	HPLC-MS	$0,97x + 8$ 27	$1,05x - 2$ 27	0,93	311	25-386 ng/mL
Todas	EMIT	$1,05x + 6$ 16	$1,09x + 2$ 11	0,97	298	33-412 ng/mL
Todas	Axsym	$1,00x + 2$ 19	$1,05x - 5$ 13	0,95	296	35-368 ng/mL
Todas	TDx	$0,87x - 18$ 20	$0,91x - 25$ 15	0,95	298	9-386 ng/mL
Coração/Pulmão	HPLC-MS	$0,87x + 32$ 26	$0,93x + 24$ 26	0,94	109	31-383 ng/mL
Fígado	HPLC-MS	$1,10x + 0,9$ 25	$1,30x - 18$ 26	0,88	80	41-386 ng/mL
Rins	HPLC-MS	$1,02x - 9$ 24	$1,09x - 17$ 16	0,94	122	25-379 ng/mL

A comparação do método de ensaio do Intervalo Baixo com a HPLC-MS inclui: 311 amostras de doentes com idades compreendidas entre 18 e 77 anos. Foram colhidas amostras em 228 indivíduos com níveis baixos, as quais representam 107 situações agudas, 195 crónicas, 109 transplantes de coração-pulmão, 80 transplantes hepáticos e 122 transplantes renais.

Método de Comparação - Intervalo do Ensaio Alto

As comparações efectuadas utilizando o ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS da Microgenics (y) e a HPLC-MS (x) forneceram a seguinte correlação.



Ensaio de Intervalo Alto CEDIA Cyclosporine PLUS

As comparações efectuadas em quatro locais, utilizando o ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS da Microgenics (y) e FPIA (x), EMIT® (x) e HPLC-MS (x) forneceram as seguintes correlações.

Tipo de Transplante	Eixo x	Regressão Linear $S_{y,x}$	$S_{y,x}$ de Deming	r	n	Intervalo
Todas	HPLC-MS	$0,97x + 98$ 81	$1,01x + 71$ 57	0,97	93	486-1.882 ng/mL
Todas	EMIT	$1,00x + 12$ 28	$1,00x + 11$ 20	0,99	343	12-1.979 ng/mL
Todas	Axsym	$1,04x - 2$ 30	$1,05x - 4$ 21	0,99	344	3-1.857 ng/mL
Todas	TDx	$0,96x - 33$ 36	$0,97x - 35$ 26	0,99	334	15-1.932 ng/mL
Fígado	HPLC-MS	$0,94x + 99$ 73	$0,98x + 70$ 52	0,96	46	529-1.417 ng/mL
Rins	HPLC-MS	$0,99x + 107$ 82	$1,02x + 84$ 58	0,97	47	486-1.882 ng/mL

A comparação do método de ensaio de Intervalo Alto com a HPLC-MS inclui: 93 amostras de doentes com idades compreendidas entre 30 e 72 anos. Foram colhidas amostras em 21 indivíduos, 8 horas após a administração de ciclosporina, as quais representam 83 situações agudas, 8 crónicas, 46 transplantes hepáticos e 47 transplantes renais.

Linearidade

Para avaliar a linearidade, foram diluídas amostras de vários doentes, com valores de ciclosporina elevados, com uma amostra de sangue total sem fármaco para o ensaio de Intervalo Baixo; para o ensaio de Intervalo Alto, foram utilizadas amostras de vários doentes medicados com ciclosporina para efectuar a diluição. A percentagem de recuperação foi, então, determinada dividindo o valor obtido no ensaio pelo valor esperado. Os valores esperados foram obtidos a partir do declive e da intercepção da regressão dos valores obtidos no ensaio.

% Almostra Elevada	Intervalo do Ensaio Baixo			Intervalo do Ensaio Alto		
	Valor Esperado (ng/mL)	Valor Obtido no Ensaio (ng/mL)	% Wiederfindung	Valor Esperado (ng/mL)	Valor Obtido no Ensaio (ng/mL)	% Wiederfindung
100,0	433	433	100,0	1.930	1.930	100,0
90,0	390	386	99,1	1.782	1.785	100,2
80,0	347	332	95,5	1.633	1.708	104,6
70,0	304	298	97,9	1.485	1.573	105,9
60,0	261	263	100,6	1.337	1.361	101,8
50,0	218	222	101,6	1.189	1.244	104,7
40,0	176	184	104,6	1.040	1.028	98,8
30,0	133	129	97	892	906	101,6
20,0	90	89	99,1	744	775	104,2
10,0	47	47	99,7	595	599	100,6
0,0	4	4	100,0	447	447	100,0

Recuperação

Para avaliar a recuperação do ensaio, foi adicionada ciclosporina a 21 amostras de sangue total normais. Para cada conjunto de 21 amostras, foi adicionada ciclosporina, conforme indicado na tabela. A percentagem de recuperação foi determinada através da divisão da dose média de cada conjunto de 21 amostras adicionadas pela quantidade teórica de ciclosporina adicionada às amostras.

	Intervalo do Ensaio Baixo		Intervalo do Ensaio Alto	
	N	21	N	21
Alvo, ng/mL	150	300	600	1.600
x (ng/mL)	141	308	590	1.570
% Recuperação	94	103	98	98

Especificidade

Os seguintes compostos foram testados em relação à reactividade cruzada no ensaio CEDIA Cyclosporine PLUS, através da respectiva adição in vitro a amostras de sangue total contendo, aproximadamente, 200 ng/mL de ciclosporina.

Composto	Concentração Testada (ng/mL)	% Reactividade Cruzada
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	Concentração Testada (ng/mL)	Dose Observada (ng/mL)	% Reactividade Cruzada
Acetaminofeno	100.000	-0,2	< 0,015
Ácido Micofenólico	50.000	-4,7	< 0,030
Ácido Salicílico	100.000	-0,7	< 0,015
Ácido Valpróico	100.000	-1,3	< 0,015
Ampicilina	100.000	0,4	< 0,015
Azatioprina	100.000	-5,2	< 0,015
Carbamazepina	100.000	-2,8	< 0,015
Cetoconazol	100.000	-0,9	< 0,015
Cimetidina	100.000	1,7	< 0,015
Cloranfenicol	100.000	-1,3	< 0,015
Digitoxina	100.000	-1,2	< 0,015
Digoxina	100.000	-1,4	< 0,015
Dipiridamida	100.000	-4,1	< 0,015
Disopiramida	100.000	-3,3	< 0,015
Eritromicina	100.000	-2,8	< 0,015
Espectinomicina	100.000	-0,5	< 0,015
Fenobarbital	100.000	-10,1	< 0,015
Fenitoína	100.000	-3,1	< 0,015
FK506	20.000	3,8	< 0,075
Furosemida	100.000	-4,2	< 0,015
Gentamicina	100.000	-1,1	< 0,015
HCL de Procaïnâmica	100.000	-2,8	< 0,015
HCL de Vancomicina	100.000	0	< 0,015
Kanamicina	100.000	0,1	< 0,015
Lidocaina	100.000	-1,6	< 0,015
Metilprednisolona	100.000	-0,6	< 0,015
N-acetilprocaïnâmica	100.000	-1,3	< 0,015
Penicilina G (Sais de Sódio)	100.000	-0,8	< 0,015
Prazosina	100.000	-0,7	< 0,015
Prednisolona	100.000	-2,4	< 0,015
Prednisona	100.000	-0,8	< 0,015
Rapamicina	5.000	-4,8	< 0,300
Rifampicina	60.000	-7,3	< 0,025
Sulfato B de Kanamicina	100.000	0,7	< 0,015
Sulfato de Amicacina	100.000	-0,7	< 0,015
Sulfato de Estreptomina	100.000	1,1	< 0,015
Sulfato de Morfina	100.000	-5	< 0,015
Sulfato de Quinidina	100.000	-1,6	< 0,015
Teofilina	100.000	0,2	< 0,015
Tobramicina	100.000	0,2	< 0,015
Triamtereno	100.000	-1,6	< 0,015
Verapamil	100.000	-0,3	< 0,015

Sensibilidade

A concentração mínima detectável para o Ensaio CEDIA® Cyclosporine PLUS é de 25 ng/mL. O valor foi determinado através do cálculo da concentração de ciclosporina que proporcionaria uma resposta igual a dois desvios padrão do calibrador baixo. A sensibilidade funcional, que consiste na concentração mais baixa com um coeficiente de variação entre ensaios de 20%, é de 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. 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).
- 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).

Glossário:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Apoio ao cliente e assistência
técnica (EUA) :
1-800-232-3342



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



Para actualizações sobre o folheto, vá a:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Outros países:

Por favor, contacte o seu representante local da Thermo Fisher Scientific.

CEDIA é uma marca comercial registada da Roche Diagnostics.

10007380-15-PT
2018 01

Thermo
SCIENTIFIC