

# Тест CEDIA® Cyclosporine PLUS

**IVD** Для диагностики in vitro

**Rx Only**

**REF** 100147

## Назначение

Тест CEDIA® Cyclosporine PLUS используется для количественного определения in vitro циклоспорина в цельной крови человека с использованием автоматических биохимических клинических анализаторов в качестве вспомогательного метода коррекции доз циклоспорина при трансплантации почек, печени и сердца.

## Краткое описание и принцип теста

Циклоспорин — это гидрофобный циклический undecaпептид грибкового происхождения, обладающий иммуносупрессивными свойствами<sup>1,2</sup>. Хотя механизм его действия до сих пор изучается, циклоспорин, по всей вероятности, влияет на метаболизм Т-хелперов и Т-супрессоров, ослабляя тем самым иммунную систему<sup>3-5</sup>. В силу своих иммуносупрессивных свойств циклоспорин крайне эффективен при лечении некоторых аутоиммунных заболеваний и снижает риск отторжения тканей после трансплантации органов. Лечение циклоспорином наиболее безопасно и эффективно при использовании узкого диапазона концентраций препарата и может сопровождаться множеством побочных эффектов<sup>6,7</sup>. Наиболее тяжелыми побочными эффектами являются отторжение органа вследствие неправильной дозы, а также нефротоксичность и гепатотоксичность, вероятность которых повышается с увеличением концентрации препарата<sup>8-11</sup>. Циклоспорин принимается перорально или вводится внутривенно. Так как скорость всасывания и метаболизм препарата в печени у разных пациентов различаются, корреляция между его концентрацией в крови и введенной дозой весьма небольшая<sup>12</sup>. Концентрация циклоспорина в крови зависит от ряда факторов, в том числе от особенностей трансплантата, возраста и общего состояния здоровья пациента, а также параллельного приема таких препаратов, как карбамазепин, фенитоин, фенбарбитал, эритромицин, рифампин, циметидин и кетоконазол<sup>13-17</sup>. Для достижения оптимального иммуносупрессивного эффекта у пациентов с пересаженными органами необходимо постоянно контролировать уровень циклоспорина<sup>18-20</sup>.

Измерение концентрации циклоспорина в цельной крови в сочетании с другими лабораторными и клиническими результатами является наилучшим способом оптимизации процесса иммуносупрессии и минимизации побочных эффектов у пациентов с пересаженными органами.

Для получения уникальной системы гомогенного иммуноферментного анализа в тесте CEDIA® Cyclosporine PLUS использована технология рекомбинантного ДНК (Патент США №4708929)<sup>21</sup>. В основе теста лежит активность бактериального фермента β-галактозидазы, который методом геной инженерии разделен на два неактивных фрагмента. Последующая спонтанная реассоциация этих фрагментов приводит к образованию полноценных активных ферментов, которые в рамках теста расщепляют субстрат, вызывая изменение его цвета, измеряемое спектрофотометрическим методом.

В ходе процедуры анализа содержащийся в пробе аналит конкурирует с комплексом аналита и одного из неактивных фрагментов β-галактозидазы за участки связывания антитела. Если в пробе присутствует аналит, он связывается с антителом, при этом свободные неактивные фрагменты фермента образуют активные ферменты. Если аналит в пробе отсутствует, антитело связывается с комплексом аналита и неактивного фрагмента, подавляя реассоциацию неактивных фрагментов β-галактозидазы, активные ферменты при этом не образуются. Количество образовавшегося активного фермента и вызванное этим изменение оптической плотности прямо пропорциональны содержанию аналита в пробе.

## Реагенты

- 1 Восстанавливающий буфер EA (акцептор фермента):** содержит 3-(N-морфолино)-пропансульфоновую кислоту (MOPS), мышинные моноклональные антитела к циклоспоринолу (0,50 мкг/мл), стабилизатор и консервант (1 x 41 мл).
- 1а Реагент EA (акцептор фермента):** содержит акцептор фермента (микробный) (0,171 г/л), буферные соли и консервант (1 x 41 мл).
- 2 Восстанавливающий буфер ED:** содержит 2-(N-морфолино)-этансульфоновую кислоту (MES), детергент и консервант (1 x 19 мл).
- 2а Реагент ED:** содержит донор фермента (микробный) (52 мкг/л) в комплексе с циклоспорином, хлорфенол красной β-D-галактопиранозид (2,73 г/л), стабилизаторы и консервант (1 x 19 мл).
- 3 Лизирующий реагент:** содержит буферные соли, детергенты и консервант (1 x 98 мл).
- 4 Калибратор А низкого уровня:** содержит бычий сывороточный альбумин (BCA) (0,45 г) и циклоспорин А (0,063 мкг).
- 5 Калибратор В низкого уровня:** содержит бычий сывороточный альбумин (BCA) (0,45 г) и циклоспорин А (1,125 мкг).

## Дополнительные материалы:

Два (2) пустых флакона объемом 20 мл для анализатора.

## Дополнительные необходимые материалы, не входящие в набор:

REF	Описание набора
100012	Набор калибраторов высокого уровня CEDIA Cyclosporine PLUS

Автоматический биохимический клинический анализатор  
Имеющиеся в продаже контрольные материалы. Обратитесь в службу технической поддержки компании Thermo Fisher Scientific за рекомендациями относительно подходящих контрольных материалов.

## ⚠ Меры предосторожности и предупреждения

При обращении со всеми лабораторными реагентами соблюдайте обычные меры предосторожности.

**ОПАСНОСТЬ.** Порошковый реагент EA содержит ≤1,0 % азида натрия. Порошковый реагент ED содержит ≤55 об.% бычьего сывороточного альбумина (BCA). Восстанавливающий буферный раствор ED содержит 0,75 % эмбриональной бычьей сыворотки, <0,1 % мышинных моноклональных антител к циклоспоринолу А и <0,13 % азида натрия. Восстанавливающий буфер ED и лизирующий реагент содержат <0,13 % азида натрия. Калибраторы содержат 18 % бычьего сывороточного альбумина (BCA) и ≤0,13 % азида натрия.

H317 — Может вызывать аллергическую кожную реакцию.

H334 — В случае вдыхания может вызывать симптомы аллергии/астмы или затруднение дыхания.

H412 — вещество опасно для водных организмов с долговременными последствиями.

EUH032 — При контакте вещества с кислотами выделяется крайне токсичный газ.

Избегайте вдыхания содержащихся в воздухе пыли/капель/испарений/аэрозольных частиц. Ношение загрязненной рабочей одежды за пределами рабочего места не разрешается. Не допускайте утечки вещества в окружающую среду. Следует использовать защитные перчатки и средства защиты глаз и лица. В случае недостаточной вентиляции следует надевать средства защиты органов дыхания. В случае попадания на кожу: смойте большим количеством воды с мылом. В СЛУЧАЕ ВДЫХАНИЯ: если дыхание затруднено, выведите пострадавшего на свежий воздух и оставьте в положении, удобном для дыхания. В случае раздражения кожи или сыпи: обратитесь за медицинской помощью. В случае респираторных симптомов: позвоните в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или вызовите врача. Загрязненную одежду необходимо стирать перед повторным использованием. Контейнер и его содержимое необходимо утилизировать в соответствии с местными/региональными/национальными/международными нормативными требованиями.

## Подготовка и хранение реагентов

Сведения о параметрах теста см. в инструкции по эксплуатации конкретного устройства. Для приготовления следующих растворов необходимо использовать охлажденные реагенты и буферы. Вынимайте набор из холодильной камеры (2–8 °C) непосредственно перед приготовлением рабочих растворов.

В случае случайного проливания очистите место разлива и утилизируйте материал в соответствии с принятыми в вашей лаборатории стандартными процедурами, а также региональными и федеральными нормативными требованиями.

В случае обнаружения при доставке упаковки повреждения обратитесь к региональному представителю технической службы (см. обратную сторону данного листа-вкладыша).

Чтобы максимально снизить риск возможного загрязнения, готовьте растворы в следующем порядке.

**Раствор реагента 2 (донор фермента):** Подсоедините флакон 2а (реагент ED) к флакону 2 (восстанавливающий буфер ED) с помощью одного из входящих в набор переходников. Смешайте содержимое флаконов, аккуратно их переворачивая, чтобы весь лиофилизированный материал из флакона 2а переместился во флакон 2. **Не допускайте образования пены.** Отсоедините флакон 2а и переходник от флакона 2 и утилизируйте их. Закройте флакон 2 и оставьте его примерно на 5 минут при комнатной температуре (15–25 °C). Повторите процедуру смешивания. Запишите дату приготовления раствора на этикетке флакона. Поместите флакон прямо в отсек для реагентов анализатора или в холодильную камеру (2–8 °C) и оставьте его там на 15 минут перед началом анализа.

**Раствор реагента 1 (акцептор фермента):** Подсоедините флакон 1а (реагент EA) к флакону 1 (восстанавливающий буфер EA) объемом 70 мл с помощью одного из входящих в набор переходников. Смешайте содержимое флаконов, аккуратно их переворачивая, чтобы весь лиофилизированный материал из флакона 1а переместился во флакон 1. **Не допускайте образования пены.** Отсоедините флакон 1а от переходника. Утилизируйте флакон 1а.

Закройте наполненный раствором флакон 1 и оставьте его примерно на 5 минут при комнатной температуре (15–25 °C). Аккуратно перемешайте еще раз. Запишите дату создания раствора на этикетке флакона. Поместите флакон прямо в отсек для реагентов анализатора или в холодильную камеру (2–8 °C). Оставьте его там не менее чем на 15 минут перед началом анализа.

На тот случай, если в анализаторе невозможно использовать флакон объемом 70 мл (флакон 1), в набор включены два (2) флакона трапециевидной формы меньшего объема. Перелейте содержимое флакона 1 равными частями в два флакона меньшего объема.

**Лизирующий реагент:** Лизирующий реагент жидкий и не требует восстановления. Каждый раз перед использованием необходимо перемешать содержимое флакона, аккуратно перевернув его 2–3 раза. Запишите на этикетке дату открытия флакона с лизирующим реагентом. Снимите колпачок и дозируйте нужное количество лизирующего реагента в чашечку для проб, как указано в соответствующих инструкциях по проведению теста CEDIA Cyclosporine PLUS.

**Назначение штрихкода.** Штрихкоды на флаконах относятся к реагентам для низких концентраций аналита. На этикетках реагентов указан специальный штрихкод, который в случае нераспознавания будет проигнорирован большинством анализаторов. Если анализатор выдает ошибку, наложите на штрихкод одноцветную пленку. При необходимости обратитесь за помощью в отдел технического обслуживания.

**ПРИМЕЧАНИЕ 1.** Разрешается использовать вместе компоненты только одного набора. **Не используйте вместе компоненты из разных наборов.**

**ПРИМЕЧАНИЕ 2.** Во избежание перекрестной контаминации реагентов закрывайте флаконы с реагентами только их собственными колпачками. Раствор реагента 2 (донор фермента) должен иметь желто-оранжевый цвет. Красный или пурпурно-красный цвет реагента свидетельствует о его контаминации. Такой реагент необходимо утилизировать.

**ПРИМЕЧАНИЕ 3.** Перед началом проведения анализа растворы реагентов 1 и 2 должны быть такой же температуры, как температура в отсеке анализатора, предназначенном для реагентов. Дополнительная информация относительно использования анализатора изложена в инструкции по применению.

**ПРИМЕЧАНИЕ 4.** Сначала приготовьте раствор реагента 2, а затем раствор реагента 1.

**ПРИМЕЧАНИЕ 5.** Для обеспечения стабильности восстановленного реагента EA необходимо беречь его от длительного непрерывного воздействия яркого света.

Храните реагенты при температуре 2–8 °C. **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.** Чтобы определить период стабильности не вскрытых материалов, см. срок годности на этикетке упаковки или флакона.

**Раствор реагента 1:** 60 дней в холодильной камере при температуре 2–8 °C.

**Раствор реагента 2:** 60 дней в холодильной камере при температуре 2–8 °C.

**Лизирующий реагент:** 60 дней при температуре 2–30 °C.

**Калибраторы:** 60 дней при температуре 2–8 °C

## Сбор образцов и порядок работы с ними

Используйте цельную кровь с добавлением ЭДТА<sup>22</sup>. Следует принять необходимые меры для сохранения целостности образца с момента его взятия и до начала процедуры анализа. Образцы должны быть промаркированы с указанием как времени взятия крови, так и времени последнего введения лекарственного препарата. Образцы следует хранить закрытыми и проводить их анализ в течение 7 дней (если они хранятся при температуре 2–8 °С) или 1 месяца (если они хранятся при температуре ≤ 20 °С). Избегайте повторного замораживания и оттаивания. Не допускайте вспенивания образцов.

## Подготовка образца

1. Калибраторы, контрольные материалы и взятые у пациента пробы должны быть доведены до комнатной температуры.
2. Перед началом анализа аккуратно и тщательно перемешайте пробу (калибраторы, контроли или взятые у пациента образцы).
3. С помощью дозатора поместите ровно 100 мкл образца в чашечку для проб.
4. С помощью капилляра добавьте ровно 400 мкл лизирующего реагента CEDIA Cyclosporine PLUS в каждую чашечку для проб.
5. Тщательно перемешивайте в мешалке каждую пробу в течение 2–5 секунд.
6. Установите чашечки с пробами в аппарат и проведите анализ.

## Гемолизат в чашечке для проб остается стабильным в течение 1,5 часа при температуре 15–25 °С<sup>23</sup>.

Тест CEDIA Cyclosporine PLUS предназначен для проведения на автоматических биохимических клинических анализаторах. Конкретные характеристики измерений находятся в архиве корпорации Microgenics, являющейся частью корпорации Thermo Fisher Scientific<sup>23</sup>.

## Процедура анализа

Для получения сведений о параметрах теста обратитесь в службу технической поддержки компании Thermo Fisher Scientific.

## Калибровка

В тесте CEDIA Cyclosporine PLUS используется стандартная калибровочная прямая, полученная с помощью соответствующего набора калибраторов CEDIA Cyclosporine PLUS. Программное обеспечение анализатора позволяет обработать полученные данные с помощью линейной регрессии методом наименьших квадратов. Проверьте калибровку с помощью имеющихся в продаже контрольных материалов с установленными диапазонами результатов измерений, предназначенных для теста CEDIA Cyclosporine PLUS.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** В каждый набор калибраторов входит карточка с числовыми параметрами калибраторов. Перед использованием нового набора калибраторов сверьте их химические параметры, чтобы убедиться в совпадении концентраций калибраторов со значениями, указанными в карточке с числовыми данными.

## Периодичность калибровки

Повторная калибровка рекомендуется

- После смены флакона с реагентом
- После смены партии калибратора или реагента
- После проведения ежемесячного технического обслуживания аппарата
- В соответствии с процедурами контроля качества

## Регистрируемый диапазон

Регистрируемый диапазон для низких концентраций аналита — от 25 до 450 нг/мл. Минимальная определяемая концентрация для теста CEDIA Cyclosporine PLUS — 25 нг/мл.

Регистрируемый диапазон для высоких концентраций аналита — от 450 до 2000 нг/мл.

## Пробы с концентрацией аналита вне диапазона

Если концентрация аналита в образце превышает концентрацию для калибратора Cyclosporine PLUS высокого уровня, то ее можно обозначить как > 2000 нг/мл или добавить в пробу одну часть исходного образца и одну часть цельной крови без циклоспорина, а затем провести лизирование и повторный анализ. Если в лаборатории измеряется содержание циклоспорина только в низких концентрациях, в пробы с уровнем циклоспорина выше этого диапазона можно добавить одну часть исходного образца и 3 части цельной крови без циклоспорина, а затем провести лизирование и повторный анализ.

1. Перед началом анализа аккуратно и тщательно перемешайте пробу.
2. Подготовьтесь к разведению, перемешав одну часть взятой у пациента пробы и одну часть цельной крови без циклоспорина ИЛИ одну часть взятой у пациента пробы и 3 части цельной крови без циклоспорина.
3. С помощью капилляра добавьте ровно 400 мкл лизирующего реагента CEDIA Cyclosporine PLUS в каждую чашечку для проб.
4. Тщательно перемешивайте в мешалке каждую пробу в течение 2–5 секунд.
5. Установите чашечки с пробами в аппарат и проведите повторный анализ.

Полученный при повторном анализе результат нужно рассчитать по следующей формуле:

Фактическое значение = Коэффициент разведения × Значение концентрации в разведенной пробе

$$\text{Коэффициент разведения} = \frac{\text{Объем пробы} + \text{Объем цельной крови без циклоспорина}}{\text{Объем пробы}}$$

Если концентрация аналита в образцах ниже минимальной определяемой концентрации, ее следует обозначить как < 25 нг/мл.

## Контроль качества и калибровка

В каждой лаборатории следует установить свою собственную периодичность выполнения контрольных анализов.

Согласно принятым нормам проведения лабораторных исследований анализ контрольного материала как минимум двух уровней (для высокой и низкой концентрации аналита) необходимо выполнять во все дни, когда проводятся анализы, и после каждой процедуры калибровки. Отслеживайте результаты контрольных анализов на предмет каких-либо трендов или сдвигов. В случае обнаружения каких-либо трендов или сдвигов, либо если результаты контрольных анализов находятся вне указанного диапазона, необходимо проверить все рабочие параметры. Обратитесь в службу технической поддержки компании Thermo Fisher Scientific за дополнительной помощью и рекомендациями относительно подходящего контрольного материала. Все процедуры контроля качества должны выполняться в соответствии с местными, региональными или федеральными нормативами или аккредитационными требованиями.

**ПРИМЕЧАНИЕ.** После смены партии реагента снова проверьте контрольные значения и контрольные диапазоны.

## Результаты и ожидаемые значения

Подробную информацию по расчетам см. в соответствующем руководстве оператора или протоколе конкретного анализатора.

## Ограничения<sup>23</sup>

Характеристики теста CEDIA Cyclosporine PLUS определялись только для проб цельной крови человека с добавлением ЭДТА, но не для других типов биологических проб.

**Критерий:** результаты измерений находятся в пределах  $\pm 15$  нг/мл от исходного значения при концентрациях < 150 нг/мл или  $\pm 10$  % от исходного значения при концентрациях > 150 нг/мл.

**Желтуха:** не оказывает существенного влияния при индексе иктеричности до 60 (концентрация несвязанного билирубина около 60 мг/дл).

**Липемия:** не оказывает существенного влияния при уровне триглицеридов до 1000 мг/дл. Не оказывает существенного влияния при уровне холестерина до 300 мг/дл. Высокое содержание триглицеридов и холестерина может привести к заниженному результату измерения.

**Общий белок:** в концентрации < 10 г/дл не оказывает влияния. При более высоких уровнях белка возможно занижение количественных показателей.

Ревматоидный фактор: в концентрации < 100 МЕ/мл не оказывает влияния.

**Диапазон гематокрита:** 30,5–53,5 %. При более высоких уровнях гематокрита возможно занижение количественных показателей. У пациентов с высокой вероятностью накопления метаболитов, например, при нарушении функции печени, неожиданно высокой концентрацией или увеличенным временем выведения препарата результаты этого теста можно подтвердить с помощью высокоэффективной по отношению к исходному соединению метода, такого как высокоэффективная жидкостная хроматография (HPLC).

Число пациентов, у которых могут присутствовать антитела к β-галактозидазе E. coli, чрезвычайно мало. Однако при анализе проб, содержащих такие антитела, могут получиться завышенные результаты, не соответствующие клинической картине. В таком случае обратитесь за помощью в службу технической поддержки компании Thermo Fisher Scientific.

Так как в тесте используются мышинные антитела, существует вероятность интерференции со стороны содержащихся в пробе человеческих антимышных антител (НАМА), что может привести к ошибочно завышенным результатам. Необходимо следить за тем, чтобы пробы крови брались через одинаковые промежутки времени после введения циклоспорина.

## Ожидаемые значения

Не существует твердо установленного терапевтического диапазона содержания циклоспорина в цельной крови. Оптимальный уровень циклоспорина в крови зависит от сочетания таких факторов, как клиническое состояние, индивидуальные различия в чувствительности к иммуносупрессивному и нефротоксическому действию циклоспорина, параллельный прием других иммунодепрессантов, тип трансплантата, время, прошедшее после трансплантации и многое другое. Индивидуальные показатели циклоспорина нельзя использовать в качестве единственной причины для изменения схемы лечения. Прежде чем вносить любые корректировки в лечение, врач должен тщательно оценить клиническое состояние пациентов и установить собственные диапазоны значений на основании своего профессионального опыта<sup>24</sup>. Эти диапазоны будут изменяться в зависимости от используемого теста. Для прогнозирования показателей отдельных пациентов нельзя использовать коэффициенты преобразования. В связи с различной перекрестной реактивностью метаболитов для каждого пациента рекомендуется использовать один и тот же тест.

## Конкретные характеристики измерений<sup>23</sup>

Ниже приведены стандартные характеристики измерений, полученные с использованием анализатора Hitachi 911. Результаты, полученные в условиях конкретной лаборатории, могут отличаться от этих данных. Дополнительные характеристики измерений для конкретного анализатора указаны в соответствующем протоколе измерений.

## Точность

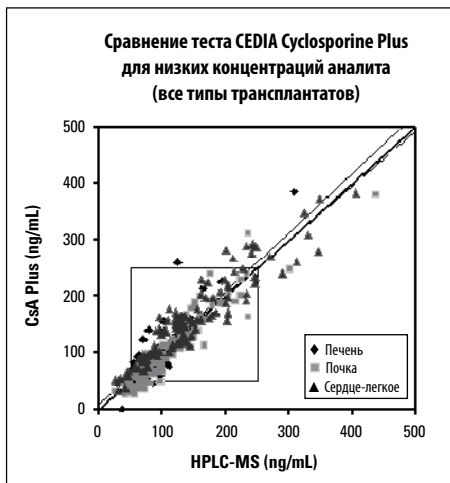
При проверке точности измерений с использованием упакованных реагентов, смешанной цельной крови от нескольких доноров и контрольных образцов цельной крови были получены следующие результаты (нг/мл) (модифицированный эксперимент с повторными процедурами анализа проводился в соответствии с руководством по оценке прецизионности количественных методов измерения (EP5-T) Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS) с использованием анализатора Hitachi 911 (37°C); ежедневно исследовались по 3 образца на протяжении 21 дня).

Тест для низких концентраций	В пределах серии		Общее значение			
	Проба	n	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
Проба с низкой концентрацией	63	54	4,7	8,8	6,6	12,2
Проба с высокой концентрацией	63	434,7	6,7	1,6	19,4	4,5

Тест для высоких концентраций	В пределах серии		Общее значение			
	Образец	n	SD	CV%	SD	CV%
CIII	63	418	31,7	7,6	40,5	9,6
CIV	63	642	38,0	5,9	47,0	7,3
CV	63	1257	49,9	4,0	63,9	5,1
Проба с низкой концентрацией	63	472	22,8	4,8	35,1	7,5
Проба с высокой концентрацией	63	1695	39,2	2,3	87,3	5,2

## Сравнение методов: тест для низких концентраций аналита

Сравнение результатов теста CEDIA Cyclosporine PLUS компании Microgenics (по оси y) и результатов, полученных с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (HPLC-MS) (по оси x) в четырех медицинских учреждениях, позволило выявить следующую корреляцию.



**Тест CEDIA Cyclosporine Plus для низких концентраций**

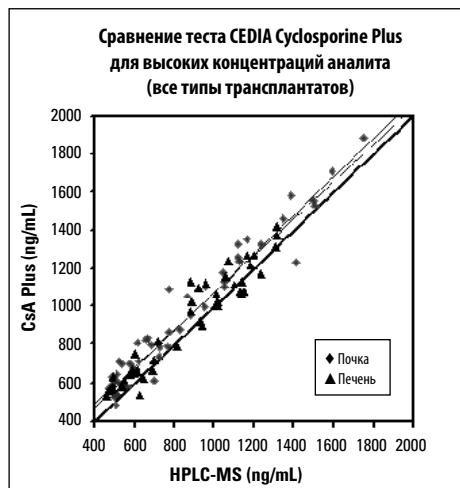
Сравнение результатов теста CEDIA Cyclosporine PLUS компании Microgenics (по оси y) и результатов, полученных с использованием методов флуоресцентного поляризационного иммуноанализа (FPIA) (по оси x), EMIT (по оси x) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (HPLC-MS) (по оси x) в четырех медицинских учреждениях, позволило выявить следующие корреляции.

Трансплантат (тип)	Ось x	Линейная регрессия $S_{y,x}$	Регрессия Деминга $S_{y,x}$	r	n	Диапазон
Все	HPLC-MS	0,97x + 8 27	1,05x - 2 27	0,93	311	25–386 нг/мл
Все	EMIT	1,05x + 6 16	1,09x + 2 11	0,97	298	33–412 нг/мл
Все	AxSYM	1,00x + 2 19	1,05x - 5 13	0,95	296	35–368 нг/мл
Все	TDx	0,87x - 18 20	0,91x - 25 15	0,95	298	9–386 нг/мл
Сердце-легкое	HPLC-MS	0,87x + 32 26	0,93x + 24 26	0,94	109	31–383 нг/мл
Печень	HPLC-MS	1,10x + 0,9 25	1,30x - 18 26	0,88	80	41–386 нг/мл
Почка	HPLC-MS	1,02x - 9 24	1,09x - 17 16	0,94	122	25–379 нг/мл

Для сравнения результатов теста с низкими концентрациями анализата и результатов, полученных методом HPLC-MS, использовалось 311 проб, взятых у пациентов в возрасте от 18 до 77 лет. У 107 из пациентов наблюдалось острое отторжение трансплантата, у 195 — хроническое; 109 перенесли пересадку сердца и легких, 80 — печени, 122 — почки; у 228 пациентов были взяты пробы с минимальной концентрацией.

**Сравнение методов: тест для высоких концентраций анализата**

Сравнение результатов теста CEDIA Cyclosporine PLUS компании Microgenics (по оси y) и результатов, полученных с использованием метода HPLC-MS (по оси x), позволило выявить следующую корреляцию.



**Тест CEDIA Cyclosporine Plus для высоких концентраций**

Сравнение результатов теста CEDIA Cyclosporine PLUS компании Microgenics (по оси y) и результатов, полученных с использованием методов флуоресцентного поляризационного иммуноанализа (FPIA) (по оси x), EMIT (по оси x) и высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (HPLC-MS) (по оси x) в четырех медицинских учреждениях, позволило выявить следующие корреляции.

Трансплантат (тип)	Ось x	Линейная регрессия $S_{y,x}$	Регрессия Деминга $S_{y,x}$	r	n	Диапазон
Все	HPLC-MS	0,97x + 98 81	1,01x + 71 57	0,97	93	486–1882 нг/мл
Все	EMIT	1,00x + 12 28	1,00x + 11 20	0,99	343	12–1979 нг/мл
Все	AxSYM	1,04x - 2 30	1,05x - 4 21	0,99	344	3–1857 нг/мл
Все	TDx	0,96x - 33 36	0,97x - 35 26	0,99	334	15–1932 нг/мл
Печень	HPLC-MS	0,94x + 99 73	0,98x + 70 52	0,96	46	529–1417 нг/мл
Почка	HPLC-MS	0,99x + 107 82	1,02x + 84 58	0,97	47	486–1882 нг/мл

Для сравнения результатов теста с высокими концентрациями анализата и результатов, полученных методом HPLC-MS, использовалось 93 пробы, взятых у пациентов в возрасте от 30 до 72 лет. У 83 из них наблюдалось острое отторжение трансплантата, у 8 — хроническое; 46 перенесли пересадку печени, 47 — почки; у 21 пациента были взяты пробы в течение 8 часов после введения циклоsporина.

**Линейность**

Для оценки линейности результатов измерений в пробы пациентов с высоким уровнем циклоsporина добавлялась цельная кровь без препаратов для теста с низкими концентрациями анализата; в тесте с высокими концентрациями анализата для разведения использовались пробы с циклоsporином. Затем путем деления результата измерения на ожидаемое значение получали процентный показатель обнаружения. Ожидаемые значения получали на основании коэффициента наклона и точки пересечения кривой регрессии, построенной по результатам измерений.

Выс. % в пробе	Тест для низких концентраций анализата			Тест для высоких концентраций анализата		
	Ожидаемое значение (нг/мл)	Измеренное значение (нг/мл)	Результаты (%)	Ожидаемое значение (нг/мл)	Измеренное значение (нг/мл)	Результаты (%)
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

**Результат измерения**

Для оценки результатов данного теста циклоsporин добавлялся к 21 нормальной пробе цельной крови. В каждый набор из 21 пробы добавлялось указанное в таблице количество циклоsporина. Показатель обнаружения определялся путем деления средней концентрации циклоsporина для каждого набора из 21 пробы с добавлением анализата на количество циклоsporина, добавлявшегося в пробы.

Тест для низких концентраций анализата		Тест для высоких концентраций анализата	
N	21	N	21
Целевой, нг/мл	150	Целевой, нг/мл	600
x (нг/мл)	141	x (нг/мл)	590
Результаты (%)	94	Результаты (%)	98

**Специфичность**

Следующие соединения исследовались на перекрестную реактивность с тестом CEDIA Cyclosporine PLUS путем добавления их in vitro в образцы цельной крови, содержащие примерно 200 нг/мл циклоsporина.

Вещество	Исследуемая концентрация (нг/мл)	Перекрестная реактивность, %
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

Вещество	Тестируемая концентрация (нг/мл)	Наблюдаемая доза (нг/мл)	% перекрестной реактивности
Ацетаминофен	100000	-0,2	< 0,015
Амикацина сульфат	100000	0,7	< 0,015
Ампициллин	100000	0,4	< 0,015
Азатиоприн	100000	-5,2	< 0,015
Карбамазепин	100000	-2,8	< 0,015
Хлорамфеникол	100000	-1,3	< 0,015
Циметидин	100000	1,7	< 0,015
Дигитоксин	100000	-1,2	< 0,015
Дигоксин	100000	-1,4	< 0,015
Дипиридамол	100000	-4,1	< 0,015
Дизопирамид	100000	-3,3	< 0,015
Эритромицин	100000	-2,8	< 0,015
FK506	20000	3,8	< 0,075
Фуросемид	100000	-4,2	< 0,015
Гентамицин	100000	-1,1	< 0,015
Канамицин	100000	0,1	< 0,015
Канамицина В сульфат	100000	0,7	< 0,015
Кетоконазол	100000	-0,9	< 0,015
Лидокаин	100000	-1,6	< 0,015
Метилпреднизолон	100000	-0,6	< 0,015
Морфина сульфат	100000	-5	< 0,015
Микофеноловая кислота	50000	-4,7	< 0,030
N-ацетил-прокаиамид	100000	-1,3	< 0,015
Пенициллин G (натриевая соль)	100000	-0,8	< 0,015
Фенобарбитал	100000	-10,1	< 0,015
Фенитоин	100000	-3,1	< 0,015
Празозин	100000	-0,7	< 0,015
Преднизолон	100000	-2,4	< 0,015
Преднизон	100000	-0,8	< 0,015
Прокаиамида гидрохлорид	100000	-2,8	< 0,015
Хинидина сульфат	100000	-1,6	< 0,015
Рапамицин	5000	-4,8	< 0,300
Рифампицин	60000	-7,3	< 0,025
Салициловая кислота	100000	-0,7	< 0,015
Спектиномицин	100000	-0,5	< 0,015
Стрептомицина сульфат	100000	1,1	< 0,015
Теofilлин	100000	0,2	< 0,015
Тобрамицин	100000	0,2	< 0,015
Триамтерен	100000	-1,6	< 0,015
Вальпроевая кислота	100000	-1,3	< 0,015
Ванкомицина гидрохлорид	100000	0	< 0,015
Верапамил	100000	-0,3	< 0,015

#### Чувствительность

Минимальная концентрация, определяемая с помощью теста CEDIA Cyclosporine PLUS — 25 нг/мл. Это значение определялось путем расчета концентрации циклоsporина, результат измерения которой составил бы два стандартных отклонения от концентрации в калибраторе низкого уровня. Функциональная чувствительность (наименьшая концентрация с CV 20 % в серии измерений) равна 40 нг/мл.

#### Список литературы

- 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., Cervielli, M.J. et al., Comparison of trough, 2-hour, and limited AUC blood sampling for monitoring cyclosporine Neoral<sup>®</sup> 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).

#### Словарь:

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



Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA (США)  
Поддержка клиентов и  
техническая помощь в США:  
1-800-232-3342



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



Обновленные версии листка-вкладыша см. на веб-сайте:  
[www.thermoscientific.com/diagnostics](http://www.thermoscientific.com/diagnostics)

#### В других странах:

Обратитесь к региональному представителю Thermo Fisher Scientific.

CEDIA является зарегистрированным товарным знаком компании Roche Diagnostics.

10007380-15-RU  
2018 01

**Thermo**  
SCIENTIFIC