

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF 100276

Anwendungsbereich

Der CEDIA® Mykophenolsäure (MPA)-Assay ist ein In-vitro-Diagnostikum für die quantitative Messung von Mykophenolsäure in Humanplasma mithilfe von Laborautomaten für die klinische Chemie als Hilfestellung beim Management einer Mykophenolsäuretherapie bei Patienten mit Nieren- und Herztransplantat.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Mykophenolsäure (MPA) ist ein Metabolit des Protharmakons Mykophenolatmofetil (MMF, CellCept®) oder von Mykophenolatnatrium und wird häufig für die Prävention einer Abstoßungsreaktion bei Patienten eingesetzt, die ein Nieren-, Herz- oder Lebertransplantat erhalten¹⁻⁵. MMF und Mykophenolatnatrium werden nach der Anwendung schnell und weitgehend absorbiert und zu MPA hydrolysiert^{1,4}. In biochemischer Hinsicht ist MPA ein starker und spezifischer Inhibitor der Inosinmonophosphatdehydrogenase (IMPDH), einem von B- und T-Lymphozyten verwendeten Enzym für die De-novo-Synthese von Purinen^{1,4}. Die Hemmung der IMPDH durch MPA unterdrückt die von der De-novo-Purinsynthese abhängige Proliferation von B- und T-Zellen und bewirkt so eine Immunsuppression. In klinisch relevanten Konzentrationen ist MPA zu etwa 97% an Humanserumalbumin gebunden und hat eine niedrige Dissoziationskonstante von 13 µM^{3,7,8}. Im Körper der Patienten wird der größte Teil der MPA von der UDP-Glukuronosyltransferase weiter zu MPAG metabolisiert, dem pharmakologisch inaktiven phenolischen Glukuronid von MPA^{1,3}. Ein geringerer Teil wird zu Acylglukuronid-MPA (AcMPAG) umgesetzt. Es gibt große Schwankungen zwischen den Patienten, was das Verhältnis von AcMPAG zu MPA anbelangt⁹⁻¹¹, das zudem von Begleitmedikationen, dem Zeitpunkt der Probenentnahme oder anderen Faktoren beeinflusst werden kann. Das Molverhältnis von AcMPAG zu MPA auf der Grundlage des AUC-Wertes wurde von Tedesco-Silva et al. auf etwa 17-20% (26-31% nach Gewicht)⁹ und von Shipkova et al. auf etwa 10% (13-17% nach Gewicht) berechnet¹⁰. Kuypers et al. stellten ein Verhältnis von 5,7-15,4% fest¹¹. Eine Überwachung von MPA käme unter Umständen einer effektiven Anwendung des Wirkstoffes und der Minimierung der Nebenwirkungen bei den Patienten zugute^{1,4}.

Der CEDIA MPA-Assay ist ein spezielles homogenes Enzymimmunoassaysystem auf der Grundlage der DNA-Rekombinationstechnologie (US-Patent Nr. 4708929)¹². Der Assay beruht auf dem Enzym β-Galaktosidase, von dem gentechnisch zwei inaktive Fragmente mit der Bezeichnung Enzymdonor (ED) und Enzymakzeptor (EA) hergestellt wurden. Diese Fragmente verbinden sich wieder spontan mit einander und bilden ein voll aktives Enzym, das im Assay ein Substrat abspaltet, wodurch es zu einer Farbänderung kommt, die spektrophotometrisch gemessen werden kann.

In diesem Assay konkurriert der Analyt in der Probe mit dem an das ED-Fragment der β-Galaktosidase konjugierten Analyt um die begrenzte Anzahl an Antikörperbindungsstellen. Bei Vorhandensein von Analyt in der Probe bindet dieser an den Antikörper, sodass das ED-Konjugat mit dem EA-Fragment aktive Enzyme bilden kann. Ist in der Probe kein Analyt vorhanden, bindet der Antikörper an den mit dem ED-Fragment konjugierten Analyt. Dadurch wird die Reassoziierung von ED und EA gehemmt und es wird kein aktives Enzym gebildet. Die Menge des gebildeten aktiven Enzyms und die daraus resultierende Änderung der Extinktion sind der Konzentration des Arzneimittels in der Probe direkt proportional.

Reagenzien/Kalibratoren

- 1 EA-Rekonstitutionspuffer:** Enthält TES {N-[Tris (hydroxymethyl) methyl]-2-aminoethansulfonsäure}, polyklonale Anti-MPA-Antikörper, Stabilisator und ein Konservierungsmittel (1 x 26 ml).
- 1a EA-Reagens:** Enthält 0,118 g/l Enzymakzeptor (mikrobiell), Puffersalze und ein Konservierungsmittel (lyophilisiert).
- 2 ED-Rekonstitutionspuffer:** Enthält Kaliumphosphat, Detergens und ein Konservierungsmittel (1 x 11 ml).
- 2a ED-Reagens:** Enthält 58 µg/l MPA-konjugierten Enzymdonor (mikrobiell), 3,0 g/l Chlorphenolrot-β-D-Galaktopyranosid, Stabilisatoren und ein Konservierungsmittel (lyophilisiert).

Weitere mitgelieferte Materialien:

Zwei (2) leere 20 ml-Flaschen.

Zusätzlich benötigte Materialien (separat verkauft):

REF	Beschreibung des Kits
100277	CEDIA® Kit mit Mykophenolsäurekalibrator
100278	MAS® Kit mit Mykophenolsäure-Kontrolle 1
100279	MAS Kit mit Mykophenolsäure-Kontrolle 2
100280	MAS Kit mit Mykophenolsäure-Kontrolle 3

Laborautomat für die klinische Chemie

⚠ Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Es gelten die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen für den Umgang mit Laborreagenzien.

ACHTUNG: Das in den Formulierungen von MAS MPA-Kontrollen verwendete Material menschlicher Herkunft wurde mit FDA-anerkannten Methoden auf HIV-1 und -2, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und erwies sich als negativ. Jedoch kann keine Testmethode das potenzielle Risiko einer Infektion mit absoluter Sicherheit ausschließen. Das Material ist daher in Übereinstimmung mit den OSHA-Standards für Blutpathogene als infektiös zu handhaben. Bei einer Exposition sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörde zu beachten.

GEFAHR: Pulverreagens enthält ≤ 56 Gew. % Rinderserumalbumin (BSA) und ≤ 2 Gew. % Natriumazid. Flüssigreagens enthält ≤ 1 % Rinderserum, ≤ 0,3 % Natriumazid, ≤ 0,1 % arzneimittelspezifische Antikörper und ≤ 2 % Antiserum (Ziege).

H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 - Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

EUH032 - Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Staub/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Zubereitung der Reagenzien

Die Assay-Parameter finden Sie im Anwendungsblatt des jeweiligen Instruments. Die folgenden Lösungen unter Verwendung von gekühlten Reagenzien (2 – 8 °C) und Puffern zubereiten. Das Kit erst unmittelbar vor der Zubereitung der Lösungen aus dem Kühlschrank nehmen.

Falls Material versehentlich verschüttet wird, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.

Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe Rückseite dieser Packungsbeilage).

Die Reagenzien in folgender Reihenfolge zubereiten, um eine mögliche Kontaminierung zu minimieren.

R2 Enzym-Spender-Lösung: Fläschchen 2a (ED-Reagens) mit Fläschchen 2 (ED-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 2a in Fläschchen 2 übertragen wird. **Schaumbildung vermeiden.** Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und entsorgen. Das gefüllte Fläschchen 2 mit dem Deckel verschließen und etwa 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-25 °C) stehen lassen. Nochmals sorgfältig mischen und das Rekonstitutionsdatum auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen direkt in das Reagenzienfach des Analysegeräts oder in den Kühlschrank (2-8 °C) stellen und vor dem Gebrauch 15 Minuten stehen lassen.

R1 Enzym-Akzeptor-Lösung: Fläschchen 1a (EA-Reagens) mit Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 1a in Fläschchen 1 übertragen wird. **Schaumbildung vermeiden.** Fläschchen 1a vom Adapter abnehmen und entsorgen. Das gefüllte Fläschchen 1 mit dem Deckel verschließen und etwa 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-25 °C) stehen lassen. Nochmals sorgfältig mischen und das Rekonstitutionsdatum auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen direkt in das Reagenzienfach des Analysegeräts oder in den Kühlschrank (2-8 °C) stellen und vor dem Gebrauch 15 Minuten stehen lassen.

Für den Fall, dass Ihr Analysegerät die Größe von Flasche 1 nicht aufnehmen kann, wurden zwei (2) kleinere leere trapezförmige Flaschen beigelegt. Den Inhalt der großen Flasche 1 gleichmäßig auf die beiden kleineren Flaschen aufteilen.

Hinweis 1: Die Komponenten dieses Kits sind zum Gebrauch als eine Einheit vorgesehen. Komponenten aus verschiedenen Kitschargen des CEDIA® MPA-Assays oder anderer CEDIA-Kits nicht mischen.

Hinweis 2: Um Kreuzkontamination der Reagenzien zu vermeiden, müssen die Fläschchenstößel korrekt den jeweiligen Reagenzienfläschchen zugeordnet werden. Die R2-Lösung (ED-Reagens) sollte gelb-orange gefärbt sein. Ein rotes bzw. purpurrotes Reagens ist kontaminiert und muss verworfen werden.

Hinweis 3: Die R1- und R2-Lösungen müssen vor Durchführung des Assays die Temperatur des Reagenzienfachs im Analysegerät erreichen. Zusätzliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt für das jeweilige Analysegerät.

Hinweis 4: Vor längerer starker Lichteinwirkung schützen, um die Stabilität der rekonstituierten EA-Lösung zu gewährleisten.

Lagerbedingungen

Die Komponenten bei der richtigen Temperatur lagern. **NICHT EINFRIEREN.** Die Stabilität der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf dem Packungs- bzw. Fläschchenetikett zu entnehmen.

R1-Lösung: 60 Tage gekühlt im Analysegerät oder bei 2-8 °C

R2-Lösung: 60 Tage gekühlt im Analysegerät oder bei 2-8 °C

Probenentnahme und Handhabung

Na₂EDTA- oder K₂EDTA-Plasmaproben verwenden. Es ist sorgfältig darauf zu achten, dass die Probe zwischen dem Zeitpunkt der Probenentnahme und der Durchführung des Assays unversehrt bleibt. Die Proben sollten mit dem Zeitpunkt der Blutabnahme und der letzten Medikamentengabe beschriftet werden. Proben verschließen und bei Aufbewahrung bei 2-8 °C (Akzeptanzkriterium: +/- 10% Wiederfindung) innerhalb von 14 Tagen bzw. bei Aufbewahrung bei ≤ -20 °C innerhalb von 5 Monaten testen^{4,13}. Keinesfalls wiederholt einfrieren und auftauen. Schaumbildung bei der Probenvorbereitung vermeiden.

Barcode-Verwendung: Die Reagenzienetiketten sind mit einem speziellen System-Barcode versehen, der von den meisten Analysegeräten ignoriert wird, wenn er nicht erkannt wird. Wenn das Analysegerät einen Fehlercode ausgibt, decken Sie den Barcode mit einfarbigem Klebeband ab. Wenden Sie sich an den Kundendienst, wenn Sie Unterstützung benötigen.

Durchführung des Assays

Kalibrierung

Der CEDIA MPA-Assay erstellt mithilfe der entsprechenden CEDIA MPA-Kalibratoren eine Standardkurve. Vor der Testung von Patientenproben ist die Assaykalibrierung durch Testung mindestens einer Kontrolle mit den für den CEDIA MPA-Assay festgelegten Wertebereichen für die Wiederfindung zu validieren.

Hinweis: Jedem CEDIA MPA-Kalibratorkit liegt eine Karte bei, auf der jedem Kalibrator ein Wert zugewiesen ist. Vor der Verwendung eines neuen Kits sind die chemischen Parameter im Labor zu prüfen, um sicherzustellen, dass die Kalibratorkonzentrationen den auf der Wertzuordnungskarte aufgedruckten Werten entsprechen.

Kalibrationshäufigkeit

Erneute Kalibrierung wird empfohlen

- In Übereinstimmung mit den Qualitätskontrollverfahren des Labors sowie
- Nach Auswechslern von Reagenzfläschchen
- Nach Änderung der Kalibrator- bzw. Reagens(kit)-Charge
- Nach Durchführung der monatlichen Gerätewartung

Ausgabebereich

Der Ausgabebereich für den CEDIA MPA-Assay beträgt 0,3 bis 10 µg/ml.

Proben außerhalb des Messbereichs

Proben > 10 µg/ml können als „Konzentration > 10 µg/ml“ angegeben oder verdünnt (Originalprobe mit dem negativen Kalibrator im Verhältnis 1:1) und erneut gemessen werden. Der nach dem erneuten Test erhaltene Wert wird wie folgt berechnet:

$$\text{Tatsächlicher Wert} = 2 \times \text{Verdünnungswert}$$

Proben mit einem Ergebnis unter der funktionellen Sensitivität des Assays sind anzugeben als < 0,3 µg/ml.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung

Jedes Labor sollte selbst die Häufigkeit der Kontrollmessungen festlegen. Nach guter Laborpraxis sollten an jedem Tag, an dem Patientenproben analysiert werden, sowie bei jeder Kalibration mindestens zwei Qualitätskontrollkonzentrationen (z.B. im unteren und oberen Grenzbereich) geprüft werden. Die Kontrollwerte auf mögliche Trends oder Verschiebungen überprüfen. Falls Trends oder Verschiebungen vorliegen oder die Wiederfindung (Recovery) der Kontrolle nicht innerhalb des vorgeschriebenen Bereichs liegt, sind alle Betriebsparameter zu überprüfen. Empfehlungen und Unterstützung zu geeigneten Kontrollmaterialien erhalten sie von Ihrer Microgenics-Vertretung. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

Hinweis: Bei Verwendung einer neuen Charge/eines neuen Kits des Reagens sind die Zielwerte und -bereiche zu überprüfen.

Einschränkungen-Störsubstanzen

Die Leistungsmerkmale des CEDIA[®] MPA-Assays sind nur für Humanplasma und nicht für weitere Körperflüssigkeiten festgelegt worden.

Akzeptanzkriterien: Was die Angaben zu Störungen unten anbelangt, wurde die Leistung des Assays als akzeptabel beurteilt (keine signifikante Störung), wenn die MPA-Wiederfindung $\pm 0,3 \mu\text{g/ml}$ bei Anfangskonzentrationen von < 3 µg/ml oder $\pm 10\%$ bei Anfangskonzentrationen von > 3 µg/ml betrug.

Ikterus (Gelbsucht): Keine signifikante Störung durch unkonjugiertes Bilirubin bei Konzentrationen bis zu 20 mg/dl.

Lipämie: Keine signifikante Störung durch Triglyzeride bei Konzentrationen bis zu 1600 mg/dl und durch Cholesterin bis zu 400 mg/dl.

Gesamteiweiß: Keine signifikante Störung durch Gesamteiweiß bis zu 10 g/dl.

Rheumafaktor: Keine signifikante Störung durch den Rheumafaktor bei Konzentrationen bis zu 2000 IE/ml.

Hämoglobin: Keine signifikante Störung durch Hämoglobin bei Konzentrationen bis zu 1000 mg/dl.

EDTA-Konzentration: Für die MPA-Testung wurden Plasmaproben empfohlen, die in ein Röhrchen abgenommen wurden, welches das Antikoagulum EDTA enthält 15. Bei der normalen, in VACUTAINER[®] (violetter Stopfen) entnommenen Probenmenge wurde keine signifikante Störung festgestellt. Wenn die entnommene Probe jedoch weniger als 1/3 des Röhrchens ausmacht, verursacht die resultierende hohe EDTA-Konzentration eine im Verhältnis zu hohe Einschätzung der MPA-Konzentration.

Sonstige Antikoagulantien: Wenngleich Plasma, welches das Antikoagulum EDTA enthält, die bevorzugte Matrix für die MPA-Messung darstellt, wurde auch Heparin hinsichtlich einer Störung des Assays geprüft. Es wurde keine signifikante Störung infolge dieses Antikoagulans festgestellt. Für jedes Antikoagulum gilt, dass die entnommenen Proben mindestens 1/3 des Röhrchens füllen müssen, um den CEDIA MPA-Assay durchführen zu können, da die MPA-Wiederfindung sonst zu hoch ist.

Antikörper gegen E. coli β -Galaktosidase: Die Inzidenz von Patienten mit Antikörpern gegen E. coli β -Galaktosidase ist extrem gering. Einige Proben, die solche Antikörper enthalten, können jedoch zu hohe MPA-Konzentrationen verursachen, die nicht mit dem klinischen Profil des Patienten übereinstimmen. Bei einem solchen Verdacht wenden Sie sich bitte an Ihre Microgenics-Vertretung.

Einschränkungen-Assaydifferenz und -variation

Unterschiedliche Immunoassays können infolge assay-spezifischer Variationen der Kreuzreaktivität der Metabolite trotz Anwendung der gleichen Probe variable Ergebnisse hervorbringen. Patienten mit eingeschränkter Clearance (z. B. Niereninsuffizienz) können die stärksten Schwankungen zeigen. Bei solchen Patienten sollte ergänzend zu diesem Assay ein Chromatographieverfahren verwendet werden, das für MPA spezifisch ist. In Anbetracht einer möglichen Tendenzbildung Bias bzw. Streuung der Ergebnisse beim Nachweis von MPA in Proben mit dem CEDIA MPA-Assay und mit einem HPLC-Verfahren im Vergleich, muss jedes Labor selbst ausgehend von der eigenen Patientenpopulation eigene therapeutische Bereiche ermitteln.

Einschränkungen-AcMPAG-Kreuzreaktivität

Der Assay hat eine Kreuzreaktivität von 158% mit AcMPAG, was im Vergleich zu Methoden wie LC-MS/MS, bei denen keine Kreuzreaktivität vorliegt, tendenziell zu hohe Ergebniswerte verursachen kann. Diese bei individuellen Patientenproben zu erkennende Ergebnistendenz in Richtung höherer Werte im Verhältnis zur LCMS hängt zum Teil mit der AcMPAG-Konzentration in der jeweiligen Probe zusammen.

Erwartete Werte

Der optimale therapeutische Bereich für MPA im Plasma wurde nicht gänzlich ermittelt. Darüber hinaus können die optimalen MPA-Konzentrationsbereiche der Patientenproben je nach Assay und dessen Metabolit-Kreuzreaktivität schwanken (Angaben zu den in diesem Assay beobachteten Kreuzreaktivitäten sind dem Abschnitt zur Kreuzreaktivität unten zu entnehmen). Für jeden kommerziellen Test sind daher optimale Wertebereiche zu ermitteln, und Werte, die mit anderen Assaymethoden erhalten wurden, können nicht wechselseitig verwendet werden. Auch die Anwendung von Korrekturfaktoren ist nicht ratsam. Auf dem Patientenbericht des Labors sollte der verwendete Assay genannt sein, um die Auswertung der Ergebnisse zu erleichtern.

Der optimale Wertebereich richtet sich nach der Art des Transplantats und der Begleitmedikation sowie nach der klinischen Verfassung des Patienten, individuellen Unterschieden hinsichtlich des Ansprechens auf Immunsuppressiva und den toxischen Effekten von MPA, dem Zeitraum seit der Transplantation und einer Reihe weiterer Faktoren. Eine Änderung der Behandlung eines Patienten darf nicht nur ausgehend von einzelnen MPA-Werten vorgenommen werden, und jeder Patient muss klinisch gründlich untersucht werden, bevor eine Behandlung geändert wird. Jedes Krankenhaus muss ausgehend von dem jeweils verwendeten Assay und anderen, für die dort vorhandene Patientenpopulation maßgeblichen Faktoren optimale Wertebereiche festlegen.

Beispiele aus der Fachliteratur mit Angabe der festgestellten optimalen Wertebereiche für MPA sind den Quellenverweisen zu entnehmen¹⁶⁻²⁰. In diesen Quellenverweisen ist auf Angaben wie den jeweils verwendeten speziellen Test, spezifische klinische Charakteristika und auf Probenentnahmezeitpunkte zu achten.

Spezifische Leistungsdaten

Im Folgenden sind typische Leistungsdaten für den CEDIA MPA-Assay auf dem Hitachi 917 Analysegerät aufgeführt¹⁰. Die im einzelnen Labor erhaltenen Ergebnisse können von diesen Daten abweichen. Weitere analysegerätspezifische Leistungsdaten können dem spezifischen Anwendungsprotokoll für das Analysegerät entnommen oder vom Microgenics-Kundendienst erhalten werden.

Präzision

Mit Proben von Transplantatpatienten unter MMF-Behandlung sowie mit Plasma, das mit MPA versetzt worden war, und mit Kontrollen wurden Untersuchungen zur Präzision innerhalb einer Analyse und zur Gesamtpräzision (Wiederholbarkeit) durchgeführt. Pool 2 bestand aus Proben von Transplantatpatienten, und Pools 1 und 3 sind MPA-negative Plasmaproben, die mit MPA versetzt wurden. Alle Proben wurden im Lauf von 11 Tagen in insgesamt 21 Analysen anhand des modifizierten CLSI-Protokolls (EP5A) getestet. Für jeden Lauf wurde eine Kalibration durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der Tabelle unten angegeben.

Intra- und Gesamtassay-Präzision (Reproduzierbarkeit)

Probe	N	Mittelwert	Intratestlauf		Gesamttestlauf	
			St.abw.	VK%	St.abw.	VK%
Patientenpool 1	126	1,0	0,06	5,6	0,08	7,7
Patientenpool 2	126	2,4	0,07	2,8	0,09	4,0
Patientenpool 3	126	6,0	0,09	1,5	0,14	2,3
Kontrolle 1	126	1,1	0,06	5,5	0,10	9,5
Kontrolle 2	126	2,7	0,06	2,2	0,13	4,8
Kontrolle 3	126	5,9	0,12	2,0	0,20	3,3

Linearität

Zur Bestimmung der Linearität des Tests wurde eine Patientenplasmaprobe hoher Konzentration mit einer MPA-freien Plasmaprobe zu einer Verdünnungsreihe über den dynamischen Bereich des Tests hinweg verdünnt. Jede Probe wurde in 5-facher Ausführung gemessen, und der Mittelwert wurde als Messergebnis verwendet. Die prozentuale Wiederfindung wurde ermittelt, indem die festgestellte MPA-Konzentration durch die erwartete Konzentration dividiert wurde. Die erwarteten Konzentrationen wurden mithilfe der höchsten gemessenen Konzentration multipliziert mit einem Verdünnungsfaktor bestimmt.

Verdünnte Proben	Erwarteter Value (µg/ml)	Gemessener Wert (µg/ml)	Wiederfindung (%)
Stufe 1	9,8	9,8	-
Stufe 2	7,4	7,4	100
Stufe 3	4,9	4,9	100
Stufe 4	3,4	3,3	97
Stufe 5	2,5	2,3	92
Stufe 6	1,0	0,9	90
Stufe 7	0,5	0,4	80
Stufe 8	0,0	0,0	-

Wiederfindung (Recovery)

Zur Bestimmung der Wiederfindung des Tests wurde normalen MPA-freien Plasmaproben und MPA-haltigen Proben von Transplantatpatienten MPA zugegeben. War die Matrix eine normale Plasmaprobe, wurde die Probe in 21-facher Ausführung getestet. War die Matrix eine Probe eines Transplantatpatienten, wurde die Probe in 5-facher Ausführung getestet. Die Wiederfindung wurde berechnet, indem die ermittelte Konzentration einer jeden Probe durch die erwartete Konzentration des zugegebenen MPA plus dem ursprünglich in der Probe vorhandenen MPA dividiert wurde.

MPA-freies Plasma

Erwarteter Wert (µg/ml)	Gemessener Wert (µg/ml)	Wiederfindung (%)
0,0	0,0	-
0,5	0,5	100
1,0	0,9	90
2,5	2,5	100
3,5	3,2	91
7,0	6,5	93

Plasma eines Transplantatpatienten

Erwarteter Wert (µg/ml)	Gemessener Wert (µg/ml)	Wiederfindung (%)
Patient 1		
0,5	0,5	-
1,0	1,0	100
2,5	2,6	104
Patient 2		
2,4	2,4	-
3,4	3,3	97
6,9	6,8	99

Spezifität

Für die Testung auf Kreuzreaktivität wurden MPA-haltigem Plasma MPA-Glukuronidmetabolite in unterschiedlicher Konzentration zugesetzt. Die geschätzte Kreuzreaktivität der Verbindungen wurde anhand der Formel berechnet und die Ergebnisse sind in der Tabelle unten gezeigt.

$$\frac{(\text{gemessene Konzentration} - \text{Konzentration der Kontrolle}) \times 100\%}{\text{Konzentration des getesteten Kreuzreaktanden}}$$

Kreuzreaktivität mit MPA-Metaboliten

Verbindung	Testkonzentration (µg/ml)	Kreuzreaktivität (%)
7-O-Glukuronid-MPA (MPAG)	1000	0,0
Acylglukuronid-MPA (AcMPAG)	10,0	164,0
	3,0	170,0
	1,8	144,4
	0,9	177,8
	0,3	133,3
	Mittelwert	158

Hinweis: Aufgrund der Kreuzreaktivität mit AcMPAG im CEDIA MPA-Assay dürfte sich im Vergleich des CEDIA MPA-Assay mit der LC-MS/MS eine Ergebnistendenz in Richtung höherer Werte ergeben.

Andere Immunsuppressiva wurden auf Kreuzreaktivität mit dem Assay getestet. Die unten aufgeführten Verbindungen zeigten in der getesteten Konzentration keine Kreuzreaktivität im CEDIA MPA-Assay.

Verbindungen	Getestete Konzentration, µg/ml
Sirolimus	0,3
Tacrolimus	0,3
Cyclosporin	10

Gängige Medikamente wurden im MPA-freien Plasma auf Kreuzreaktivität mit dem Assay getestet. Die unten aufgeführten Verbindungen zeigten in der getesteten Konzentration keine Kreuzreaktivität im CEDIA MPA-Assay.

Verbindungen	Getestete Konzentration, µg/ml
Acyclovir	100
Amikacin	100
Amphotericin B	50
Ampicillin	100
Azathioprin	100
Carbamazepin	100
Chinidin	100
Chloramphenicol	100
Cimetidin	100
Ciprofloxacin	100
Digitoxin	10
Digoxin	10
Disopyramid	100
Erythromycin	100
Fluconazol	100
Flucytosin	100
Furosemid	100
Gancyclovir	100
Gentamicin	100
Hydrocortison	100
Itraconazol	100
Kanamycin A	100
Kanamycin B	100
Ketoconazol	100
Lidocain	100
Methylprednisolon	100
Morphin	100
N-Acetylprocainamid	100
Natriumsalicylat	50
Paracetamol	100
Penicillin	100
Phenobarbital	100
Phenytoin	100
Prazosin	100
Prednisolon	100
Prednison	100
Procainamid	100
Rifampicin	60
Spectinomycin	100
Streptomycin	100
Theophyllin	100
Tobramycin	100
Triamteren	100
Valproinsäure	100
Vancomycin	100
Verapamil	100

Kleinste nachweisbare Dosis

Die LDD ist definiert als die niedrigste Konzentration, die sich mit einem Vertrauen von 95% von null unterscheiden lässt. Es wurden 21 MPA-negative Plasmaproben hinsichtlich der kleinsten nachweisbaren Dosis (LDD) gemessen und die LDD beträgt 0,2 µg/ml.

Funktionelle Sensitivität

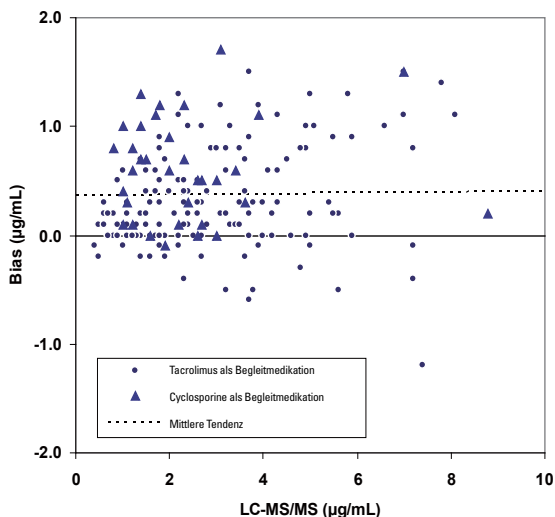
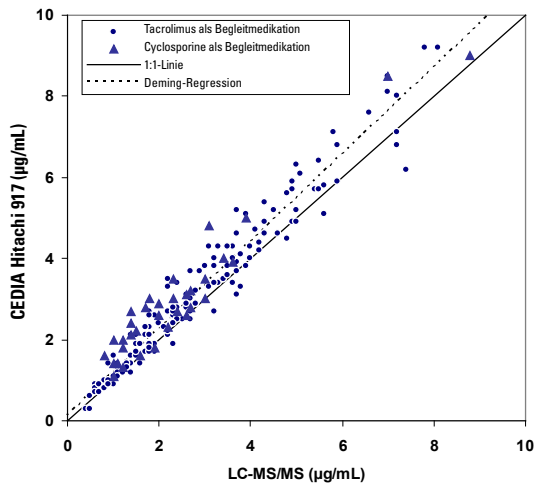
Die funktionelle Sensitivität, definiert als niedrigste Wirkstoffkonzentration, die einen Variationskoeffizienten (VK%) von < 20% ergibt, liegt für den CEDIA MPA-Assay bei 0,3 µg/ml. Bei dieser Konzentration gibt es eine Ergebnisverschiebung in Richtung höherer Werte um etwa 0,01 µg/ml, eine Wiederfindung von 104% und einen VK von 17,6%.

Methodenvergleich

In einer Methodenvergleichsstudie mit LC-MS/MS als Referenzmethode wurden insgesamt 188 Proben von erwachsenen Transplantatpatienten, die Mykophenolatmofetil oder Mykophenolatnatrium erhielten, vor Dosisgabe getestet. Die Tabelle unten fasst die Ergebnisse der Studie zusammen. Es wurde eine separate Analyse nach Transplantattyp und eine kombinierte Analyse mit dem EP-Evaluator durchgeführt. In der Spalte „Regressionsmethode“ sind die Ergebnisse zu Steigung und Achsenschnittpunkt mit den 95% Vertrauensintervallen in Klammer angegeben.

Probe	N	Regressionsmethode		r
Plasma Herz	96	Kleinstes Quadrat Steigung	1,114 (1,061 bis 1,166)	0,9743
		Kleinstes Quadrat Achsenschnittpunkt	0,20 (0,05 bis 0,36)	
Plasma Niere	92	Deming Steigung	1,147 (1,094 bis 1,200)	0,9711
		Deming Achsenschnittpunkt	0,12 (-0,04 bis 0,28)	
Plasma Alle	188	Kleinstes Quadrat Steigung	1,127 (0,974 bis 1,080)	0,9698
		Kleinstes Quadrat Achsenschnittpunkt	0,16 (-0,03 bis 0,36)	
		Deming Steigung	1,060 (1,006 bis 1,113)	
		Deming Achsenschnittpunkt	0,06 (-0,13 bis 0,25)	
		Kleinstes Quadrat Steigung	1,054 (1,015 bis 1,092)	
		Kleinstes Quadrat Achsenschnittpunkt	0,22 (0,09 bis 0,34)	
		Deming Steigung	1,089 (1,051 bis 1,128)	
		Deming Achsenschnittpunkt	0,12 (-0,01 bis 0,25)	

Bei der Mehrzahl der Patienten wurde gleichzeitig Tacrolimus angewendet (n=153). Diese Patienten sind in dem Schaubild unten mit Kreissymbolen angegeben. Bei den anderen Patienten wurde gleichzeitig Cyclosporin angewendet (n=34). Diese Patienten sind in dem Schaubild unten mit Dreiecksymbolen angegeben.



n = 188
Mittelwert (Y-X) = 0,37
St.abw (Y-X) = 0,47
1,96 St.abw = 0,92
Mittelwert + 1,96 St.abw = 1,29
Mittelwert - 1,96 St.abw = -0,55

Literatur

- Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, et al. Mycophenolate mofetil: A report of the consensus panel. *Ther Drug Monit.* 1995; 17: 690-699.
- Shaw LM, Korecka M, Breeman RV, et al. Analysis, pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin Biochem.* 1998; 31(5): 323-328.
- Oellerich M, Shipkova M, Schutz E, et al. Pharmacokinetic and metabolic investigations of mycophenolic acid in pediatric patients after renal transplantation: implications for therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit.* 2000; 22(1): 20-26.
- Shaw LM, Holt DW, Oellerich M, et al. Current issues in therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: report of a round table discussion. *Ther Drug Monit.* 2001; 23(4): 305-315.
- Physicians' Desk Reference, 58th ed. Thomson PDR at Montvale, NJ. 2004; *CellCept®*: 2884-2891.
- Stintchak MD, Fleming MA, Futer O, et al. Structure and mechanism of inosine monophosphate dehydrogenase in complex with the immunosuppressant mycophenolic acid. *Cell.* 1996; 85: 921-930.
- Nowak I, Shaw LM. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relationship to pharmacodynamics. *Clin Chem.* 1995; 41: 1011-1017.
- Shaw LM, Nowak I. Mycophenolic acid: Measurement and relationship to pharmacological effects. *Ther Drug Monit.* 1995; 17: 685-689.
- Tedesco-silva H, Bastien MC, Choi L, Felipe C, Campestrini J, Picard F, Schmouder R. Mycophenolic acid metabolite profile in renal transplant patients receiving enteric-coated mycophenolate sodium or mycophenolate mofetil. *Transplant Proc.* 2005;37(2):852-855.
- Shipkova M, Armstrong VW, Weber L et al. Pharmacokinetics and protein adduct formation of the pharmacologically active acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2002, 24:390-399.
- Kuypers DRJ, Vanrenterghem Y, Squifflet JP et al. Twelve-month evaluation of the clinical pharmacokinetics of total and free mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in renal allograft recipients on low dose tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit* 2003; 25:609-622.
- Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. *Clin chem.* 1986; 32: 1637-1641.
- De Loor H, Naesens M, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Stability of mycophenolic acid and glucuronide metabolites in human plasma and the impact of deproteinization methodology. *Clinica chimica Acta.* 2008;389(1-2):87-92.
- Data on file at Microgenics Corporation.
- Shaw LM, Nicholls A, Hale M, Armstrong VW, Oellerich M, et al. Therapeutic Monitoring of Mycophenolic Acid, A Consensus Panel Report. *Clin Biochem.* 1998; 31(5): 317-332.
- Kuypers D, de Jonge H, Naesens M, et al. Current target ranges of mycophenolic acid exposure and drug-related adverse events: A 5-year, open-label, prospective, clinical follow-up study in renal allograft recipients. *Clinical Therapeutics.* 2008; 30(4): 673-683.
- Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, et al. Comparison of the Emit Immunoassay with HPLC for Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolic Acid in Pediatric Renal-Transplant Recipients on Mycophenolate Mofetil Therapy. *Clin Chem.* 2002; 48(3): 517-525.
- Kaczmarek I, Bigdeli AK, Vogeser M, et al. Defining Algorithms for Efficient Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolate Mofetil in Heart Transplant Recipients. *Ther Drug Monit.* 2008; 30(4): 419-427.
- Van Gelder T, Meur YL, Shaw LM, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolate Mofetil in Transplantation. *Ther Drug Monit.* 2006; 28(2): 145-154.
- Cox VC and Ensom MHH. Mycophenolate Mofetil for Solid Organ Transplantation: Does the Evidence Support the Need for Clinical Pharmacokinetic Monitoring? *Ther Drug Monit.* 2003; 25: 137-157.

Glossar:

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

 Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundendienst und technischer
Support für 1-800-232-3342



EC REP

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

 Aktualisierte Packungsbeilagen finden Sie unter:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Andere Länder:

Bitte wenden Sie sich an die zuständige Vertretung von Thermo Fisher Scientific.

CEDIA ist ein eingetragenes Warenzeichen von Roche Diagnostics.

10009470-11-DE
2017 09

Thermo
SCIENTIFIC