CEDIA® Mycophenolic Acid Assay

Thermo SCIENTIFIC

IVD **Για in vitro διαγνωστική χρήση**

Rx Only

REF 100276

Προοριζόμενη χρήση

Το CEDIA® Mycophenolic Acid (MPA) Assay είναι μια in vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή προοριζόμενη για την ποσοτική μέτρηση του μυκοφαινολικού οξέος στο ανθρώπινο πλάσμα, με χρήση αυτόματων αναλυτών κλινικής χημείας ως βοήθημα στη διαχείριση της θεραπείας με μυκοφαινολικό οξύ σε ασθενείς με εμφυτεύματα νεφρών και καρδιάς.

Σύνοψη και εξήγηση της δοκιμής

Το μυκοφαινολικό οξύ (MPA), μεταβολισμένο από μυκοφαινολάτη μοφετίλ (MMF, CellCept®) προ φαρμάκου, ή νατριούχο μυκοφαινολάτη, χρησιμοποιείται ευρέως για την πρόληψη της απόρριψης εμφυτευμάτων σε ασθενείς που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρών, καρδιάς ή ήπατος[1-5]. Μετά τη χορήγηση, το MMF και η νατριούχος μυκοφαινολάτη απορροφώνται γρήγορα και σε μεγάλο βαθμό, και υδρολύονται σε MPA[1-4]. Από βιοχημική άποψη, το MPA είναι ένας ισχυρός αναστολέας ειδικά της αφυδρογονάσης της μονοφωσφορικής ινοσίνης (IMPDH), ενός ενζύμου για τη de novo σύνθεση πουρίνης που χρησιμοποιείται από τα λεμφοκύτταρα B και T[1-6]. Η αναστολή του IMPDH από το MPA καταστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων B και T λόγω της εξάρτησής τους από τη de novo σύνθεση πουρίνης και καταλήγει, έτσι, σε ανοσοκαταστολή. Σε κλινικά σχετικές συγκεντρώσεις, το MPA είναι κατά 97% περίπου συνδεδεμένο με την αλβουμίνη ανθρώπινου ορού με χαμηλή σταθερά διαστάσεως στα 13 μM[3, 7-8]. Στους ασθενείς, το MPA μεταβολίζεται περαιτέρω από τη UDP-γλυκουρονική τρανσφεράση κυρίως σε MPAG, το φαινολικό γλυκουρονίδιο του MPA, το οποίο είναι φαρμακολογικά ανενεργό[1-3], και, σε μικρότερο βαθμό, σε ακυλικό γλυκουρονίδιο του MPA (AcMPAG). Η διακύμανση της αναλογίας AcMPAG σε MPA[9-11] είναι μεγάλη μεταξύ ασθενών και μπορεί να επηρεαστεί από την παράλληλη χορήγηση φαρμάκων, το χρόνο δειγματοληψίας ή άλλους παράγοντες. Η μοριακή αναλογία AcMPAG σε MPA με βάση το AUC ήταν περίπου 17-20% κατά τους Tedesco-Silva et al. (26-31% κατά βάρος)[9] και περίπου 10% κατά τους Shipkova et al. (13-17% κατά βάρος)[10]. Αναλογία 5.7-15.4% παρατηρήθηκε από τους Kuypers et al.[11]. Η παρακολούθηση του MPA είναι σημαντική για την αποτελεσματική χρήση του φαρμάκου και την ελαχιστοποίηση των δυσμενών παρενεργειών στους ασθενείς[1, 4].

Το CEDIA MPA Assay χρησιμοποιεί τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA (αριθ. διπλώματος ευρεσιτεχνίας ΗΠΑ 4708929) για τη δημιουργία ενός μοναδικού συστήματος ομοιογενούς ανοσοπροσδιορισμού ενζύμων[12]. Ο προσδιορισμός βασίζεται στο ένζυμο β-γαλακτοσιδάση, το οποίο έχει σχεδιαστεί γενετικά σε δύο ανενεργά τμήματα που ονομάζονται ένζυμο δότης (ED) και ένζυμο υποδοχέας (EA). Τα τμήματα αυτά επανασυσχετίζονται αυθόρμητα για να σχηματίσουν πλήρως ενεργά ένζυμα, τα οποία στη μορφή του προσδιορισμού, διασπούν ένα υπόστρωμα, δημιουργώντας μια αλλαγή χρώματος που μπορεί να μετρηθεί φασματοφωτομετρικά.

Στον προσδιορισμό, η αναλυόμενη ουσία του δείγματος ανταγωνίζεται την αναλυόμενη ουσία που είναι συζευγμένη στο ED της β-γαλακτοσιδάσης για τους περιορισμένους αριθμούς των περιοχών δέσμευσης αντισωμάτων. Εάν υπάρχει αναλυόμενη ουσία στο δείγμα, δεσμεύεται στο αντίσωμα, αφήνοντας ελεύθερο το ED να σχηματίσει ενεργά ένζυμα με το EA. Εάν δεν υπάρχει αναλυόμενη ουσία στο δείγμα, το αντίσωμα δεσμεύεται στην αναλυόμενη ουσία που είναι συζευγμένη στο ED, ανακόπτοντας την επανασυσχέτιση του ED στο EA, και δεν σχηματίζεται ενεργό ένζυμο. Η ποσότητα ενεργού ενζύμου που σχηματίζεται και η μεταβολή στην απορρόφηση που προκύπτει είναι ευθέως ανάλογες με την ποσότητα φαρμάκου που υπάρχει στο δείγμα.

Αντιδραστήρια/Βαθμονομητές

1 **Ρυθμιστικό διάλυμα ανασύστασης EA:** Περιέχει TES {N-[Τρισ (υδροξυμεθυλο) μεθυλο]-2-αμινοαιθανιο-σουλφονικό οξύ}, αντι-MPA πολυκλωνικά αντισώματα, σταθεροποιητή και συντηρητικό (1 x 26 mL).

1α **Αντιδραστήριο EA:** Περιέχει 0.118 g/L υποδοχέα ενζύμου (μικροβιακό), ρυθμιστικά άλατα και συντηρητικό (λυοφιλοποιημένο).

2 **Ρυθμιστικό διάλυμα ανασύστασης ED:** Περιέχει φωσφορικό κάλιο, απορρυπαντικό και συντηρητικό (1 x 11 mL).

2α **Αντιδραστήριο ED:** Περιέχει 58 μg/L δότη ενζύμου (μικροβιακό) συζευγμένου με MPA, 3.0 g/L ερυθρό χλωροφαινόλης-β-Δ-γαλακτοπυρανοσίδης, σταθεροποιητές και συντηρητικό (λυοφιλοποιημένο).

Πρόσθετα υλικά που παρέχονται:

Δύο (2) κενές φιάλες των 20 mL.

Πρόσθετα υλικά που απαιτούνται (αλλά δεν παρέχονται):

REF	Περιγραφή του κιτ
100277	CEDIA® Mycophenolic Acid Calibrator Kit
100278	MAS® Mycophenolic Acid Control 1 Kit
100279	MAS Mycophenolic Acid Control 2 Kit
100280	MAS Mycophenolic Acid Control 3 Kit

Αυτόματος αναλυτής κλινικής χημείας

⚠ Προφυλάξεις και προειδοποιήσεις

Τηρείτε τις συνήθεις προφυλάξεις που απαιτούνται για το χειρισμό όλων των εργαστηριακών αντιδραστηρίων.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Τα υλικά ανθρώπινης προέλευσης, που χρησιμοποιούνται στο σκεύασμα μαρτύρων MAS MPA, έχουν ελεγχθεί για HIV1 και 2, ηπατίτιδα B και ηπατίτιδα C με μεθόδους αποδεκτές από την Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA) και τα ευρήματα ήταν αρνητικά. Ωστόσο, καθώς καμία μέθοδος ελέγχου δεν μπορεί να αποκλείσει τον πιθανό κίνδυνο μόλυνσης με απόλυτη βεβαιότητα, ο χειρισμός του υλικού πρέπει να γίνεται θεωρώντας ότι το υλικό είναι μολυσματικό σύμφωνα με τα πρότυπα του OSHA για τα αιματογενώς μεταδιδόμενα παθογόνα. Σε περίπτωση έκθεσης, θα πρέπει να ακολουθούνται οι οδηγίες των αρμόδιων αρχών υγείας.

ΚΙΝΔΥΝΟΣ: Το αντιδραστήριο σε σκόνη περιέχει ≤56% w/w αλβουμίνη ορού βοοειδών (BSA), ≤2.0% w/w αζίδιο του νατρίου. Το υγρό αντιδραστήριο περιέχει ≤1.0% ορό βοοειδών, ≤0.3% αζίδιο του νατρίου, ≤0.1% αντίσωμα ειδικό για το φάρμακο και ≤2.0% αντιορούς (αίγας).

H317 - Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση.

H334 - Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής.

EUH032 - Σε επαφή με οξέα ελευθερώνονται πολύ τοξικά αέρια.

Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/ σταγονίδια/ ατμούς/ εκνεφώματα. Τα μολυσμένα ενδύματα εργασίας δεν πρέπει να βγαίνουν από το χώρο εργασίας. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια / πρόσωπο. Σε περίπτωση ανεπαρκούς αερισμού, να φοράτε μέσα ατομικής προστασίας της αναπνοής. Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα: Πλύνετε με άφθονο σαπούνι και νερό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΙΣΠΝΟΗΣ: Εάν ο παθών έχει δύσπνοια, μεταφέρετέ τον στον καθαρό αέρα και αφήστε τον να ξεκουραστεί σε στάση που διευκολύνει την αναπνοή. Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό. Εάν παρουσιάζονται αναπνευστικά συμπτώματα: Καλέστε το ΚΕΝΤΡΟ ΔΗΛΗΤΗΡΙΑΣΕΩΝ ή ένα γιατρό. Πλύνετε τα μολυσμένα ενδύματα πριν τα ξαναχρησιμοποιήσετε. Διαθέστε το περιεχόμενο/ τον περιέκτη σε τοποθεσία σύμφωνα με τους τοπικούς/περιφερειακούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

Προετοιμασία αντιδραστηρίου

Για παραμέτρους προσδιορισμού, ανατρέξτε στο φύλλο εφαρμογής του συγκεκριμένου οργάνου. Προετοιμάστε τα ακόλουθα διαλύματα χρησιμοποιώντας ψυχρά (2...8ºC) αντιδραστήρια και ρυθμιστικά διαλύματα. Βγάλτε το κιτ από το ψυγείο αμέσως πριν από την προετοιμασία των διαλυμάτων εργασίας.

Σε περίπτωση ακούσιας υπερχείλισης, καθαρίστε και απορρίψτε το υλικό, σύμφωνα με τις τυπικές διαδικασίες χειρισμού (ΤΔΧ) του εργαστηρίου σας, αλλά και σύμφωνα με τους κανονισμούς της περιοχής και της πολιτείας σας.

Αν η συσκευασία είναι κατεστραμμένη κατά την άφιξη, επικοινωνήστε με τον τεχνικό αντιπρόσωπο υποστήριξης (ανατρέξτε στην τελευταία σελίδα του παρόντος ενθέτου της συσκευασίας).

Προετοιμάστε τα αντιδραστήρια με την ακόλουθη σειρά για να ελαχιστοποιήσετε την πιθανότητα επιμόλυνσης.

Διάλυμα δότη ενζύμου R2: Συνδέστε τη Φιάλη 2α (αντιδραστήριο ED) με τη Φιάλη 2 (ρυθμιστικό διάλυμα ανασύστασης ED) χρησιμοποιώντας έναν από τους παρεχόμενους προσαρμογείς. Αναμίξτε αναποδογυρίζοντας απαλά, φροντίζοντας ώστε όλο το λυοφιλοποιημένο υλικό της Φιάλης 2α να μεταφερθεί στη Φιάλη 2. **Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού.** Αποσυνδέστε τη Φιάλη 2α και τον προσαρμογέα από τη Φιάλη 2 και απορρίψτε τα. Κλείστε με καπάκι τη γεμάτη Φιάλη 2 και αφήστε την να ηρεμήσει για περίπου 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15...25°C). Αναμίξτε ξανά ήπια και καταγράψτε την ημερομηνία ανασύστασης στην ετικέτα της φιάλης. Τοποθετήστε τη φιάλη κατευθείαν στο τμήμα αντιδραστηρίων του αναλυτή ή στο ψυγείο (2...8ºC) και αφήστε τη να ηρεμήσει για 15 λεπτά πριν να τη χρησιμοποιήσετε.

Διάλυμα υποδοχέα ενζύμου R1: Συνδέστε τη Φιάλη 1α (αντιδραστήριο EA) με τη Φιάλη 1 (ρυθμιστικό διάλυμα ανασύστασης EA) χρησιμοποιώντας έναν από τους παρεχόμενους προσαρμογείς. Αναμίξτε αναποδογυρίζοντας απαλά, φροντίζοντας ώστε όλο το λυοφιλοποιημένο υλικό της Φιάλης 1α να μεταφερθεί στη Φιάλη 1. **Αποφύγετε το σχηματισμό αφρού.** Αποσυνδέστε τη Φιάλη 1α από τον προσαρμογέα και απορρίψτε τα. Κλείστε με καπάκι τη γεμάτη Φιάλη 1 και αφήστε την να ηρεμήσει για περίπου 5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου (15...25°C). Αναμίξτε ξανά ήπια και καταγράψτε την ημερομηνία ανασύστασης στην ετικέτα της φιάλης. Τοποθετήστε τη φιάλη κατευθείαν στο τμήμα αντιδραστηρίων του αναλυτή ή στο ψυγείο (2...8ºC) και αφήστε τη να ηρεμήσει για 15 λεπτά πριν να τη χρησιμοποιήσετε.

Σε περίπτωση που η φιάλη 1 δεν χωρά στον αναλυτή σας, έχουν συμπεριληφθεί δύο (2) κενές μικρότερες φιάλες τραπεζοειδούς στυλ. Μεταγγίστε τα περιεχόμενα της μεγαλύτερης φιάλης 1 σε καθεμία από τις 2 μικρότερες φιάλες, χωρίζοντας τον όγκο ίσα μεταξύ των δύο φιαλών.

Σημείωση 1: Τα συστατικά που παρέχονται σε αυτό το κιτ προορίζονται για χρήση ως αναπόσπαστη μονάδα. Μην αναμιγνύετε συστατικά από διαφορετικές παρτίδες κιτ του CEDIA® MPA Assay ή άλλα κιτ CEDIA.

Σημείωση 2: Αποφύγετε τη διασταυρούμενη μόλυνση των αντιδραστηρίων, αντιστοιχίζοντας καπάκια αντιδραστηρίων με τις σωστές φιάλες αντιδραστηρίων. Το διάλυμα R2 (αντιδραστήριο ED) θα πρέπει να έχει κίτρινο-πορτοκαλί χρώμα. Το κόκκινο ή μωβ-κόκκινο χρώμα υποδεικνύει ότι το αντιδραστήριο έχει επιμολυνθεί και πρέπει να απορριφθεί.

Σημείωση 3: Τα διαλύματα R1 και R2 πρέπει να έχουν τη θερμοκρασία του τμήματος αντιδραστηρίων του αναλυτή πριν να διεξαχθεί ο προσδιορισμός. Ανατρέξτε στο φύλλο εφαρμογής του συγκεκριμένου αναλυτή για πρόσθετες πληροφορίες.

Σημείωση 4: Για να διασφαλίσετε τη σταθερότητα του ανασυσταθέντος αντιδραστηρίου EA, προστατεύστε το από την παρατεταμένη, συνεχή έκθεση σε έντονο φως.

Συνθήκες αποθήκευσης

Αποθηκεύστε τα συστατικά στην κατάλληλη θερμοκρασία. **ΜΗΝ ΚΑΤΑΨΥΧΕΤΕ.** Όσον αφορά τη σταθερότητα των συστατικών που δεν έχουν ανοιχτεί, ανατρέξτε στην ετικέτα της συσκευασίας ή της φιάλης, για να δείτε την ημερομηνία λήξης.

Διάλυμα R1: 60 ημέρες στην ψύξη στους 2...8ºC

Διάλυμα R2: 60 ημέρες στην ψύξη στους 2...8ºC

Συλλογή και χειρισμός δειγμάτων

Χρησιμοποιήστε δείγματα πλάσματος Na_2EDTA ή K_2EDTA. Η ακεραιότητα του δείγματος θα πρέπει να διασφαλίζεται από το χρόνο συλλογής έως τη διεξαγωγή του προσδιορισμού. Τα δείγματα θα πρέπει να επισημαίνονται με το χρόνο συλλογής του αίματος καθώς και με την τελευταία χορήγηση φαρμάκου. Τα δείγματα θα πρέπει να πωματίζονται και να προσδιορίζονται εντός 14 ημερών όταν είναι αποθηκευμένα στους 2...8ºC (κριτήρια αποδοχής +/- 10% αποκατάσταση) ή εντός 5 μηνών όταν είναι αποθηκευμένα στους ≤ -20ºC[4,13]. Αποφεύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη. Μην προκαλείτε τη δημιουργία αφρού στα δείγματα.

Χρήση γραμμωτού κώδικα: Οι ετικέτες αντιδραστηρίων διαθέτουν ένα αποκλειστικό σύστημα γραμμωτού κώδικα που οι περισσότεροι αναλυτές θα αγνοήσουν εάν δεν το αναγνωρίσουν. Εάν ο αναλυτής εμφανίσει κωδικό σφάλματος, επικαλύψτε τον γραμμωτό κώδικα με ταινία συμπαγούς χρώματος. Εάν χρειαστεί, επικοινωνήστε με το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης για βοήθεια.

Διαδικασία προσδιορισμού

Βαθμονόμηση

Το CEDIA MPA Assay παράγει μια τυπική καμπύλη, χρησιμοποιώντας τους κατάλληλους CEDIA MPA Calibrators. Πριν από τον προσδιορισμό των δειγμάτων ασθενών, επικυρώστε τη βαθμονόμηση του προσδιορισμού, ελέγχοντας τους μάρτυρες με εύρος αποκατάστασης που έχει καθιερωθεί για το CEDIA MPA Assay.

Σημείωση: Σε κάθε κιτ CEDIA MPA Calibrator εσωκλείεται μια καρτέλα αντιστοιχίας τιμών βαθμονομητών. Πριν από τη χρήση ενός νέου κιτ, ελέγξτε τις χημικές παραμέτρους σας για να βεβαιωθείτε ότι οι συγκεντρώσεις των βαθμονομητών ταιριάζουν με τις τιμές που αναγράφονται στην καρτέλα αντιστοιχίας τιμών.

Συχνότητα βαθμονόμησης

Συνιστάται επαναβαθμονόμηση

- Όπως απαιτείται βάσει των διαδικασιών ποιοτικού ελέγχου του εργαστηρίου σας, και
- Έπειτα από αλλαγή φιαλών αντιδραστηρίων
- Έπειτα από αλλαγή παρτίδας (κιτ) βαθμονομητών ή αντιδραστηρίων
- Έπειτα από την πραγματοποίηση της μηνιαίας συντήρησης του οργάνου

Αναφερόμενο εύρος

Το αναφερόμενο εύρος για το CEDIA MPA Assay είναι 0.3 έως 10 μg/mL.

Δείγματα εκτός εύρους

Μπορείτε να αναφέρετε τα δείγματα με ποσοτικοποίηση >10 μg/mL ως "συγκέντρωσης >10 μg/mL" ή να αραιώσετε ένα μέρος του αρχικού δείγματος με ένα μέρος αρνητικού βαθμονομητή και να επαναλάβετε τον προσδιορισμό. Η τιμή που λαμβάνεται από την επανάληψη του προσδιορισμού θα πρέπει να προκύπτει ως εξής:

Πραγματική τιμή = 2 x τιμή αραίωσης

Τα δείγματα με αποτέλεσμα μικρότερο της λειτουργικής ευαισθησίας θα πρέπει να αναφέρονται ως <0.3 μg/mL.

Ποιοτικός έλεγχος και βαθμονόμηση

Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να καθορίσει τη δική του συχνότητα ελέγχου. Η ορθή εργαστηριακή πρακτική συνιστά να ελέγχονται τουλάχιστον δύο συγκεντρώσεις (π.χ. χαμηλό και υψηλό σημείο ιατρικής απόφασης) ποιοτικού ελέγχου κάθε μέρα κατά την οποία αναλύονται δείγματα ασθενών και κάθε φορά που πραγματοποιείται βαθμονόμηση. Παρακολουθείτε τις τιμές μάρτυρα για τάσεις ή μετατοπίσεις. Εάν ανιχνευτούν τάσεις ή μετατοπίσεις, ή αν δεν ανακτηθεί ο μάρτυρας εντός του καθορισμένου εύρους, εξετάστε όλες τις παραμέτρους λειτουργίας. Επικοινωνήστε με το Τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Microgenics για περαιτέρω βοήθεια και συστάσεις σχετικά με το κατάλληλο υλικό μάρτυρα. Όλες οι διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου πρέπει να διεξάγονται σύμφωνα με τους τοπικούς, πολιτειακούς ή/και ομοσπονδιακούς κανονισμούς ή τις απαιτήσεις εργαστηριακής πιστοποίησης.

Σημείωση: Επαναξιολογήστε τους στόχους και το εύρος του ποιοτικού ελέγχου έπειτα από αλλαγή της παρτίδας (κιτ) αντιδραστηρίου.

Περιορισμοί-Ουσίες παρεμβολής

Τα χαρακτηριστικά απόδοσης του CEDIA® MPA Assay έχουν καθοριστεί μόνο για ανθρώπινο πλάσμα και όχι για άλλα υγρά σώματος.

Κριτήρια αποδοχής: Όσον αφορά τις πληροφορίες παρεμβολής παρακάτω, η απόδοση θεωρήθηκε αποδεκτή (χωρίς σημαντική παρεμβολή), όταν υπήρχε αποκατάσταση MPA ± 0.3 μg/mL σε αρχικές συγκεντρώσεις < 3 μg/mL ή ± 10% σε αρχικές συγκεντρώσεις > 3 μg/mL.

Ίκτερος: Χωρίς σημαντική παρεμβολή από μη συζευγμένη χολερυθρίνη σε συγκέντρωση έως 20 mg/dL.

Λιπαιμία: Χωρίς σημαντική παρεμβολή από τριγλυκερίδια σε συγκέντρωση έως 1600 mg/dL και από χοληστερόλη σε συγκέντρωση έως 400 mg/dL.

Ολική πρωτεΐνη: Χωρίς σημαντική παρεμβολή από ολική πρωτεΐνη έως 10 g/dL.

Ρευματοειδής παράγοντας: Χωρίς σημαντική παρεμβολή από ρευματοειδή παράγοντα σε συγκέντρωση έως 2000 IU/mL.

Αιμοσφαιρίνη: Χωρίς σημαντική παρεμβολή από αιμοσφαιρίνη σε συγκέντρωση έως 1000 mg/dL.

Συγκέντρωση EDTA: Τα δείγματα πλάσματος που συλλέγονται στο σωληνάριο με αντιπηκτικό EDTA ήταν τα ενδεδειγμένα για τον έλεγχο MPA[15]. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική παρεμβολή με τη φυσιολογική ποσότητα δειγμάτων που συλλέχθηκαν σε VACUTAINER®(μωβ κάλυμμα). Ωστόσο, αν το συλλεχθέν δείγμα γεμίσει λιγότερο από το 1/3 του σωληναρίου, η προκύπτουσα υψηλή συγκέντρωση EDTA θα έχει ως αποτέλεσμα σχετική υπερεκτίμηση της συγκέντρωσης MPA.

Άλλα αντιπηκτικά: Παρόλο που το πλάσμα με αντιπηκτικό EDTA είναι η προτιμώμενη μήτρα για τη μέτρηση του MPA, ελέγχθηκε και η ηπαρίνη για παρεμβολή. Δεν παρατηρήθηκε σημαντική παρεμβολή από αυτό το αντιπηκτικό. Για όλα τα αντιπηκτικά, τα δείγματα που συλλέγονται πρέπει να γεμίζουν περισσότερο από το 1/3 του σωληναρίου του προσδιορισμού CEDIA MPA, αφού μικρότερη ποσότητα τείνει να δώσει υψηλότερη αποκατάσταση MPA.

Αντισώματα σε β-γαλακτοσιδάση του E. coli: Οι περιπτώσεις ασθενών με αντισώματα σε β-γαλακτοσιδάση του E. coli είναι εξαιρετικά λίγες. Ωστόσο, ορισμένα δείγματα με τα εν λόγω αντισώματα ενδέχεται να παράγουν εσφαλμένα υψηλές συγκεντρώσεις MPA, κάτι που μπορεί να μη συνάδει με το κλινικό προφίλ του ασθενούς. Εάν υποψιάζεστε ότι συμβαίνει κάτι τέτοιο, επικοινωνήστε με το Τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της Microgenics για βοήθεια.

Περιορισμοί-Διαφορές και διακυμάνσεις του προσδιορισμού

Οι διαφορετικοί ανοσοπροσδιορισμοί μπορεί να δώσουν ποικίλα αποτελέσματα για το ίδιο δείγμα, λόγω των διακυμάνσεων στην αλληλοδραστικότητα του μεταβολίτη σε κάθε προσδιορισμό συγκεκριμένα. Οι ασθενείς με μειωμένη τιμή εκκαθάρισης (π.χ. νεφρική ανεπάρκεια) ενδέχεται να εμφανίσουν τη μεγαλύτερη διακύμανση. Για τους εν λόγω ασθενείς, η χρήση αυτής της ανάλυσης μπορεί να υποστηριχθεί με μια χρωματογραφική μέθοδο ειδικά για MPA. Με δεδομένη την πιθανή απόκλιση ή διασπορά σχετικά με τη σύγκριση του CEDIA MPA Assay και του HPLC για την ανίχνευση MPA σε δείγματα, είναι σημαντικό κάθε εργαστήριο να καθιερώσει το δικό του θεραπευτικό εύρος με βάση το δικό του πληθυσμό ασθενών.

Περιορισμός-Αλληλοδραστικότητα AcMPAG

Ο προσδιορισμός έχει αλληλοδραστικότητα 158% στο AcMPAG, κάτι που μπορεί να προκαλέσει θετική απόκλιση σε σύγκριση με μεθόδους, όπως η LC-MS/MS, που δεν έχουν αλληλοδραστικότητα. Η απόκλιση σε σχέση με το LCMS για κάθε μεμονωμένο δείγμα ασθενούς συνδέεται εν μέρει με τη συγκέντρωση AcMPAG στο συγκεκριμένο δείγμα.

Αναμενόμενες τιμές

Δεν έχει καθιερωθεί πλήρως το βέλτιστο θεραπευτικό εύρος του MPA στο πλάσμα. Επιπλέον, το βέλτιστο εύρος συγκέντρωσης MPA ασθενών μπορεί να ποικίλλει, ανάλογα με τον συγκεκριμένο προσδιορισμό και την αλληλοδραστικότητα του μεταβολίτη του (ανατρέξτε στην ενότητα αλληλοδραστικότητας παρακάτω για τις αλληλοδραστικότητες που παρατηρήθηκαν με αυτόν τον προσδιορισμό). Επομένως, θα πρέπει να καθιερωθεί το βέλτιστο εύρος για κάθε δοκιμή του εμπορίου, και οι τιμές που λαμβάνονται με διαφορετικές μεθόδους προσδιορισμού δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά ούτε θα πρέπει να εφαρμόζονται συντελεστές διόρθωσης. Τα εργαστήρια θα πρέπει να περιλαμβάνουν στις αναφορές ασθενών την ταυτότητα του προσδιορισμού, προκειμένου να συμβάλλουν στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Το βέλτιστο εύρος εξαρτάται από τον τύπο της μεταμόσχευσης και τα παράλληλα χορηγούμενα φάρμακα, καθώς και από την κλινική κατάσταση του ασθενούς, τις μεμονωμένες διαφορές στην ευαισθησία στις ανοσοκατασταλτικές και τοξικές επιδράσεις του MPA, το χρόνο μετά τη μεταμόσχευση και διάφορους άλλους παράγοντες. Οι μεμονωμένες τιμές MPA δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αποκλειστικός δείκτης για την πραγματοποίηση αλλαγών στο σχήμα αγωγής και κάθε ασθενής πρέπει να αξιολογείται πλήρως κλινικά πριν από την πραγματοποίηση αλλαγών στο σχήμα αγωγής. Κάθε ίδρυμα θα πρέπει να καθιερώσει το βέλτιστο εύρος με βάση τον συγκεκριμένο προσδιορισμό και άλλους παράγοντες που αφορούν τον πληθυσμό των ασθενών του.

Παραδείγματα βιβλιογραφίας που πραγματεύονται το παρατηρηθέν βέλτιστο εύρος για MPA συμπεριλαμβάνονται στις βιβλιογραφικές αναφορές[16-20]. Θα πρέπει να σημειώνονται χαρακτηριστικά, όπως οι συγκεκριμένοι προσδιορισμοί, τα ειδικά κλινικά χαρακτηριστικά και οι χρόνοι δειγματοληψίας.

Ειδικά χαρακτηριστικά απόδοσης

Τα τυπικά δεδομένα απόδοσης για το CEDIA MPA Assay στον αναλυτή Hitachi 917 παρέχονται παρακάτω[10]. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν σε κάθε εργαστήριο μπορεί να διαφέρουν από αυτά τα δεδομένα. Για περισσότερα δεδομένα σχετικά με την απόδοση κάθε αναλυτή, ανατρέξτε στο πρωτόκολλο εφαρμογής του εκάστοτε αναλυτή ή καλέστε το Τμήμα τεχνικής υποστήριξης της Microgenics για βοήθεια.

Ακρίβεια

Διεξήχθησαν μελέτες ακριβείας εντός κύκλου ανάλυσης και συνολικής τιμής (αναπαραγωγιμότητα) με δείγματα από μετασμοσχευμένους ασθενείς που λάμβαναν MMF, πλάσμα με έγχυση MPA και μάρτυρες. Το ενοποιημένο δείγμα 2 αποτελείται από δείγματα μεταμοσχευμένων ασθενών, ενώ τα ενοποιημένα δείγματα 1 και 3 είναι δείγματα πλάσματος αρνητικού MPA με έγχυση MPA. Όλα τα δείγματα προσδιορίστηκαν συνολικά σε 21 κύκλους επί 11 ημέρες, με το τροποποιημένο πρωτόκολλο από το CLSI (EP5A). Πραγματοποιήθηκε βαθμονόμηση για κάθε κύκλο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Ακρίβεια εντός κύκλου και συνολικής τιμής (αναπαραγωγιμότητα)

			Τιμή εντός κύκλου ανάλυσης		Συνολική τιμή	
Δείγμα	**N**	**Μέση τιμή**	**SD**	**CV%**	**SD**	**CV%**
Ενοποιημένο δείγμα ασθενούς 1	126	1.0	0.06	5.6	0.08	7.7
Ενοποιημένο δείγμα ασθενούς 2	126	2.4	0.07	2.8	0.09	4.0
Ενοποιημένο δείγμα ασθενούς 3	126	6.0	0.09	1.5	0.14	2.3
Μάρτυρας 1	126	1.1	0.06	5.5	0.10	9.5
Μάρτυρας 2	126	2.7	0.06	2.2	0.13	4.8
Μάρτυρας 3	126	5.9	0.12	2.0	0.20	3.3

Γραμμικότητα

Για την αξιολόγηση της γραμμικότητας του προσδιορισμού, ένα υψηλό δείγμα πλάσματος ασθενή αραιώθηκε με δείγμα πλάσματος χωρίς MPA για την παραγωγή μιας σειράς δειγμάτων κατά μήκος του δυναμικού εύρους του προσδιορισμού. Κάθε δείγμα ελέγχθηκε σε 5 επαναλήψεις και η μέση τιμή χρησιμοποιήθηκε ως το μετρούμενο αποτέλεσμα. Το ποσοστό αποκατάστασης προσδιορίστηκε μετά από διαίρεση της παρατηρούμενης συγκέντρωσης MPA με την αναμενόμενη συγκέντρωση. Οι αναμενόμενες συγκεντρώσεις προσδιορίστηκαν με χρήση της υψηλότερης συγκέντρωσης του ελέγχου επί τον συντελεστή αραίωσης.

Αραιωμένα δείγματα	**Αναμενόμενη τιμή (μg/mL)**	**Μετρημένη τιμή (μg/mL)**	**Αποκατάσταση (%)**
Επίπεδο 1	9.8	9.8	-
Επίπεδο 2	7.4	7.4	100
Επίπεδο 3	4.9	4.9	100
Επίπεδο 4	3.4	3.3	97
Επίπεδο 5	2.5	2.3	92
Επίπεδο 6	1.0	0.9	90
Επίπεδο 7	0.5	0.4	80
Επίπεδο 8	0.0	0.0	-

Αποκατάσταση

Για την αξιολόγηση της αποκατάστασης του προσδιορισμού, προστέθηκε MPA σε φυσιολογικά δείγματα πλάσματος χωρίς MPA και σε δείγματα μεταμοσχευμένων ασθενών με MPA. Το δείγμα ελέγχθηκε σε 21 επαναλήψεις για τη μήτρα του φυσιολογικού πλάσματος και σε 5 επαναλήψεις για τη μήτρα του μεταμοσχευμένου δείγματος. Η αποκατάσταση υπολογίστηκε από τη διαίρεση της παρατηρούμενης συγκέντρωσης κάθε δείγματος με την αναμενόμενη συγκέντρωση του προστιθεμένου MPA συν το MPA που υπήρχε αρχικά στα δείγματα.

Πλάσμα χωρίς MPA

Αναμενόμενη τιμή (μg/mL)	Μετρημένη τιμή (μg/mL)	Αποκατάσταση (%)
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

Πλάσμα ασθενών Tx

Αναμενόμενη τιμή (μg/mL)	Μετρημένη τιμή (μg/mL)	Αποκατάσταση (%)
Ασθενής 1		
0.5	0.5	-
1.0	1.0	100
2.5	2.6	104
Ασθενής 2		
2.4	2.4	-
3.4	3.3	97
6.9	6.8	99

Ειδικότητα

Στο πλάσμα με MPA προστέθηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις μεταβολιτών γλυκουρονιδίου MPA για τον έλεγχο της αλληλοδραστικότητας. Η εκτιμώμενη αλληλοδραστικότητα των ενώσεων υπολογίστηκε με τον τύπο και τα αποτελέσματα που φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.

$$\frac{\text{(μετρημένη συγκέντρωση - συγκέντρωση μάρτυρα)} \times 100\%}{\text{ελεγμένη συγκέντρωση αλληλοδραστικής ουσίας}}$$

Αλληλοδραστικότητα με μεταβολίτες MPA

Ένωση	Συγκέντρωση ελέγχου (μg/mL)	Αλληλοδραστικότητα (%)
7-O-γλυκουρονίδιο MPA (MPAG)	1000	0.0
Ακυλικό γλυκουρονίδιο MPA (AcMPAG)	10.0	164.0
	3.0	170.0
	1.8	144.4
	0.9	177.8
	0.3	133.3
		Μέσος όρος 158

Σημείωση: Λόγω της αλληλοδραστικότητας σε AcMPAG στον προσδιορισμό CEDIA MPA, αναμένεται ότι θα υπάρχει πιθανή θετική απόκλιση μεταξύ του προσδιορισμού CEDIA MPA και του LC-MS/MS.

Ελέγχθηκαν και άλλα ανοσοκατασταλτικά για την αλληλοδραστικότητα με τον προσδιορισμό. Οι ενώσεις που παρατίθενται στη συνέχεια δεν εμφάνισαν αλληλοδραστικότητα στην ελεγμένη συγκέντρωση στον προσδιορισμό CEDIA MPA.

Ενώσεις	Συγκέντρωση ελέγχου, μg/mL
Σιρόλιμους	0.3
Ταχρόλιμους	0.3
Κυκλοσπορίνη	10

Ελέγχθηκαν κοινά φάρμακα στο πλάσμα χωρίς MPA για αλληλοδραστικότητα στον προσδιορισμό. Οι ενώσεις που παρατίθενται στη συνέχεια δεν εμφάνισαν αλληλοδραστικότητα στην ελεγμένη συγκέντρωση στον προσδιορισμό CEDIA MPA.

Ενώσεις	Συγκέντρωση ελέγχου, μg/mL
Ακεταμινοφαίνη	100
N-ακετυλο-προκαϊναμίδη	100
Ακυκλοβίρη	100
Αμικασίνη	100
Αμφοτερικίνη Β	50
Αμπικιλλίνη	100
Αζαθειοπρίνη	100
Καρβαμαζεπίνη	100
Χλωραμφενικόλη	100
Σιμετιδίνη	100
Σιπροφλοξασίνη	100
Διγοξίνη	10
Διγιτοξίνη	10
Δισοπυραμίδη	100
Ερυθρομυκίνη	100
Φλουκοναζόλη	100
Φλουκυτοσίνη	100
Φουροσεμίδη	100
Γανκυκλοβίρη	100
Γενταμικίνη	100
Υδροκορτιζόνη	100
Ιτρακοναζόλη	100
Καναμυκίνη Α	100
Καναμυκίνη Β	100
Κετοκοναζόλη	100
Λιδοκαΐνη	100
Μεθυλπρεδνιζολόνη	100
Μορφίνη	100
Πενικιλλίνη	100
Φαινοβαρβιτάλη	100
Φαινυτοΐνη	100
Πραζοσίνη	100
Πρεδνιζολόνη	100
Πρεδνιζόνη	100
Προκαϊναμίδη	100
Κινιδίνη	100
Ριφαμπικίνη	60
Σαλυκιλικό νάτριο	50
Σπεκτινομυκίνη	100
Στρεπτομυκίνη	100
Θεοφυλλίνη	100
Τομπραμυκίνη	100
Τριαμτερένη	100
Βαλπροϊκό οξύ	100
Βανκομυκίνη	100
Βεραπαμίλη	100

Ελάχιστη ανιχνεύσιμη δόση

Η LDD ορίζεται ως η μικρότερη συγκέντρωση που μπορεί να διαφοροποιηθεί από το μηδέν με εμπιστοσύνη 95%. Ελέγχθηκαν 21 δείγματα αρνητικού πλάσματος MPA για ελάχιστη ανιχνεύσιμη δόση (LDD) και η LDD είναι 0.2 μg/mL.

Λειτουργική ευαισθησία

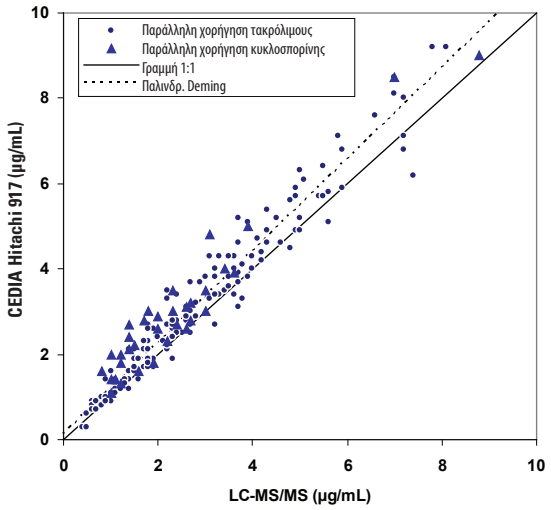
Η λειτουργική ευαισθησία, που ορίζεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου που δίνει συντελεστή μεταβολής (CV%) < 20%, είναι 0.3 μg/mL για το CEDIA MPA Assay. Σε αυτήν τη συγκέντρωση, υπάρχει περίπου 0.01 μg/mL απόκλιση, 104% αποκατάσταση και 17.6% CV.

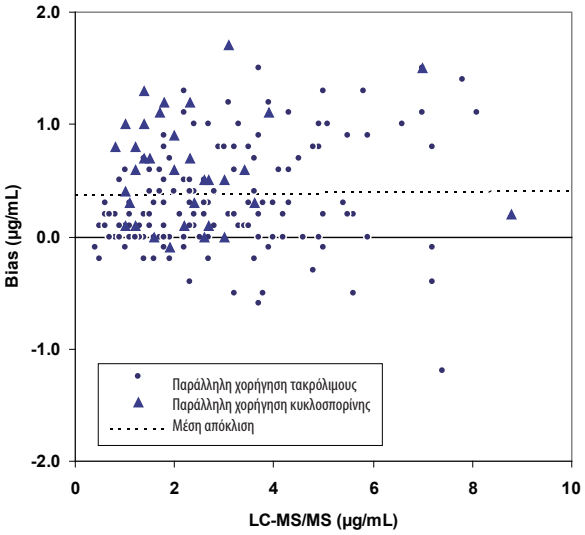
Σύγκριση μεθόδων

Ελέγχθηκαν συνολικά 188 δείγματα πριν από τη χορήγηση δόσης από ενήλικες μεταμοσχευμένους ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με μυκοφαινολάτη μοφετίλ ή νατριούχο μυκοφαινολάτη σε μια μελέτη σύγκρισης μεθόδων, χρησιμοποιώντας την LC-MS/MS ως μέθοδο αναφοράς. Ο παρακάτω πίνακας συνοψίζει τα αποτελέσματα της μελέτης, εμφανίζοντας ξεχωριστή ανάλυση ανά τύπο μεταμόσχευσης και συνολικά χρησιμοποιώντας EP Evaluator. Στη στήλη της μεθόδου παλινδρόμησης, τα αποτελέσματα κλίσης και τομής παρουσιάζονται με διαστήματα εμπιστοσύνης 95% σε παρενθέσεις.

Δείγμα	N	Μέθοδος παλινδρόμησης		r
Πλάσματος Καρδιάς	96	Κλίση ελάχιστου τετραγώνου Τομή ελάχιστου τετραγώνου	1.114 (1.061 έως 1.166) 0.20 (0.05 έως 0.36)	0.9743
		Κλίση Deming Τομή Deming	1.147 (1.094 έως 1.200) 0.12 (-0.04 έως 0.28)	
Πλάσματος Νεφρού	92	Κλίση ελάχιστου τετραγώνου Τομή ελάχιστου τετραγώνου	1.127 (0.974 έως 1.080) 0.16 (-0.03 έως 0.36)	0.9711
		Κλίση Deming Τομή Deming	1.060 (1.006 έως 1.113) 0.06 (-0.13 έως 0.25)	
Πλάσματος Όλα	188	Κλίση ελάχιστου τετραγώνου Τομή ελάχιστου τετραγώνου	1.054 (1.015 έως 1.092) 0.22 (0.09 έως 0.34)	0.9698
		Κλίση Deming Τομή Deming	1.089 (1.051 έως 1.128) 0.12 (-0.01 έως 0.25)	

Στην πλειοψηφία των ασθενών χορηγήθηκε παράλληλα τακρόλιμους (n=153), που παρουσιάζεται με κύκλους στα παρακάτω γραφήματα. Στους υπόλοιπους χορηγήθηκε παράλληλα κυκλοσπορίνη (n=34), που παρουσιάζεται με τρίγωνα στα παρακάτω γραφήματα.





N = 188

Μέσος όρος (Y-X) = 0.37

SD (Y-X) = 0.47

1.96 SD = 0.92

Μέσος όρος + 1.96 SD = 1.29

Μέσος όρος – 1.96 SD = -0.55

Βιβλιογραφικές αναφορές

1. Shaw LM, Sollinger HW, Halloran P, et al. Mycophenolate mofetil: A report of the consensus panel. *Ther Drug Monit.* 1995; 17: 690-699.
2. Shaw LM, Korecka M, Breeman RV, et al. Analysis, pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin Biochem.* 1998; 31(5): 323-328.
3. 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.
4. 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.
5. Physicians' Desk Reference, 58th ed. Thomson PDR at Montvale, NJ. 2004; *CellCept®*: 2884-2891.
6. 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.
7. Nowak I, Shaw LM. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relationship to pharmacodynamics. *Clin Chem.* 1995; 41: 1011-1017.
8. Shaw LM, Nowak I. Mycophenolic acid: Measurement and relationship to pharmacological effects. *Ther Drug Monit.* 1995; 17: 685-689.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. *Clin chem.* 1986; 32: 1637-1641.
13. 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.
14. Data on file at Microgenics Corporation.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.

Γλωσσάριο:
http://www.thermofisher.com/symbols-glossary

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Υποστήριξη πελατών
και Τεχνική υποστήριξη στις Η.Π.Α.:
1-800-232-3342

EC REP
B·R·A·H·M·S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Για ενημερώσεις του ένθετου, μεταβείτε στη διεύθυνση:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Άλλες χώρες:
Επικοινωνήστε με τον αντιπρόσωπο της Thermo Fisher Scientific.

Το CEDIA είναι σήμα κατατεθέν της Roche Diagnostics.

10009470-14-EL
2024 01

Thermo SCIENTIFIC