CEDIA® Mycophenolic Acid Assay

Thermo SCIENTIFIC

IVD **Diagnostiseen in vitro -käyttöön**

Rx Only

REF 100276

Käyttötarkoitus

CEDIA® Mycophenolic Acid (MPA) Assay on in vitro -diagnostinen lääketieteellinen menetelmä, jolla mitataan mykofenolihapon määrä ihmisen plasmasta automaattisten kliinisen kemian analysaattoreiden avulla, ja se tukee munuais- ja sydänsiirtopotilaiden hoitoa mykofenolihapon avulla.

Yhteenveto ja testin selitys

Mykofenolihappo (MPA), joka metaboloituu aihiolääkkeestä mykofenolaattimofetiili (MMF, CellCept®) tai mykofenolaatin natriumista, on laajalti käytetty hyljinnänestolääke munuais-, sydän- ja maksansiirtopotilailla[1-5]. Lääkkeenannon jälkeen MMF ja mykofenolaatin natrium imeytyvät nopeasti ja laaja-alaisesti ja hydroloituvat mykofenolihapoksi (MPA)[1-4]. Biokemiallisesta näkökulmasta katsottuna MPA on vaikuttava ja spesifinen inosiinimonofosfaattidehydrogenaasin (IMPDH) estäjä, joka on puolestaan B- ja T-lymfosyyttien käyttämä puriinien de novo -synteesin entsyymi .[1-6]. Estämällä IMPDH:n MPA ehkäisee B- ja T-solujen lisääntymistä, koska ne ovat riippuvaisia puriinien de novo -synteesistä, ja näin syntyy immunosuppressiivinen vaikutus. Kliinisesti merkittävillä pitoisuuksilla MPA on noin 97 % sitoutunut ihmisen seerumin albumiiniin ja sillä on alhainen dissosiaatiovakio 13 μM[3, 7-8]. Potilailla MPA metaboloituu edelleen UDP-glukuronyylitransferaasin vaikutuksesta pääasiassa mykofenolihapon fenoliglukuronidiksi (MPAG), joka on farmakologisesti inaktiivinen[1-3] , sekä vähemmissä määrin mykofenolihapon asyyliglukuronidiksi (AcMPAG). Potilaiden välillä on suurta vaihtelua AcMPAG:n ja MPA:n välisessä suhteessa[9-11] , mikä voi johtua muusta samanaikaisesta lääkityksestä, näytteenottoajasta tai muista tekijöistä. Käyrän alle jäävän pinta-alan perusteella AcMPAG:n moolisuhteen MPA:han nähden on havaittu olevan noin 17–20 % (Tedesco-Silva et al) (massasuhde 26–31 %)[9] ja noin 10 % (Shipkova et al.) (massasuhde 13–17 %)[10]. Kuypers et al. määrittivät suhteen arvoksi 5,7–15,4 %[11]. Mykofenolihapon valvonta voi olla tärkeää lääkkeen tehokkaan käytön kannalta sekä haittavaikutusten ehkäisemiseksi potilailla[1, 4].

CEDIA MPA -analysointimenetelmässä käytetään yhdistelmä-DNA-tekniikkaa (Yhdysvaltain patenttinro 4708929), jolla tuotetaan yksilöllinen homogeeninen entsyymi-immunomääritysjärjestelmä[12]. Analysointi perustuu entsyymin β-galaktosidaasiin, joka on geneettisesti valmistettu kahtena inaktiivisena fragmenttina, joita kutsutaan entsyymidonoriksi (ED) ja entsyymiakseptoriksi (EA). Nämä fragmentit liittyvät spontaanisti uudelleen yhteen ja muodostavat täysin aktiivisia entsyymejä, jotka määritysmuodossa pilkkovat substraatin ja tuottavat värimuutoksen, joka voidaan mitata spektrofotometrisesti.

Määrityksessä näytteessä oleva analyytti kilpailee β-galaktosidaasin ED-fragmenttiin konjugoituneen analyytin kanssa rajallisesta määrästä vasta-aineen sitoutumiskohtia. Jos näytteessä on analyyttia, se sitoutuu vasta-aineeseen ja jättää ED-konjugaatin vapaaksi muodostamaan aktiivisia entsyymejä EA-fragmenttien kanssa. Jos näytteessä ei ole analyyttia, vasta-aine sitoutuu ED-fragmenttiin konjugoituneeseen analyyttiin ja estää ED- ja EA-fragmenttien uudelleensitoutumisen, jolloin aktiivista entsyymiä ei muodostu. Muodostuneen aktiivisen entsyymin määrä ja saatu absorbanssin muutos ovat suhteessa näytteessä olevan lääkkeen määrään.

Reagenssit/kalibrointiliuokset

1 **EA-rekonstituutiopuskuri:** Sisältää TES-happoa {N-[tris-(hydroksimetyyli)-metyyli]-2-aminoetaani-sulfonihappo}, anti-MPA -polyklonaalisia vasta-aineita, stabilointiainetta ja säilytysainetta (1 x 26 ml).

1a **EA-reagenssi:** Sisältää 0,118 g/l entsyymiakseptoria (mikrobinen), puskurisuoloja ja säilytysainetta (lyofilisoitu).

2 **ED-rekonstituutiopuskuri:** Sisältää kaliumfosfaattia, puhdistusainetta ja säilytysainetta (1 x 11 ml).

2a **ED-reagenssi:** Sisältää 58 μg/l MPA-konjugoitunutta entsyymidonoria (mikrobinen), 3,0 g/l kloorifenoli punainen-β-D-galaktopyranosidia, stabilointiainetta ja säilytysainetta (lyofilisoitu).

Toimitetut lisämateriaalit:

Kaksi (2) tyhjää 20 ml:n pulloa.

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät sisälly toimitukseen:

REF	Pakkauksen kuvaus
100277	CEDIA® Mycophenolic Acid Calibrator Kit
100278	MAS® Mycophenolic Acid Control 1 Kit
100279	MAS Mykofenolihapon kontrolliaine 2 -pakkaus
100280	MAS Mykofenolihapon kontrolliaine 3 -pakkaus

Automaattinen kliinisen kemian analysaattori

⚠ Varotoimet ja varoitukset

Kaikkien laboratorioreagenssien käytössä on noudatettava normaaleja varotoimia.

HUOMIO: Mykofenolihapon MAS-kontrolliliuoksissa käytetyt ihmisperäiset materiaalit testattiin HIV1- ja HIV2-viruksen, hepatiitti B:n ja hepatiitti C:n varalta FDA:n hyväksymällä menetelmällä, ja löydökset olivat negatiiviset. Koska mikään testimenetelmä ei kuitenkaan voi varmuudella sulkea pois mahdollista tartuntariskiä, tuotetta on käsiteltävä veriteitse leviäviä patogeenejä koskevien OSHSA-standardien mukaisesti tartuntavaarallisena. Mahdollisessa altistumistilanteessa tulee noudattaa vastuullisten terveysviranomaisten ohjeita.

VAARA: Jauhereagenssi sisältää ≤56 massaprosenttia naudan seerumin albumiinia (BSA) ja ≤2,0 massaprosenttia natriumatsidia. Nestereagenssi sisältää ≤1,0 % naudan seerumia, ≤0,3 % natriumatsidia, ≤0,1 % lääkeainekohtaista vasta-ainetta ja 2,0% antiseerumia (vuohi).
H317 – Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion.
H334 – Voi aiheuttaa hengitettynä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia.
EUH032 – Kosketus happoihin vapauttaa hyvin toksista kaasua.

Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä. Kontaminoituneita työvaatteita ei saa viedä pois työpaikalta. Käytä suojakäsineitä/suojalaseja/kasvosuojusta. Mikäli tuuletus on riittämätöntä, käytä hengityssuojainta. Jos ainetta pääsee iholle: Pese runsaalla saippualla ja vedellä. SISÄÄNHENGITETTYNÄ: Jos hengitysvaikeuksia, siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja pidä lepoasennossa, jossa on helppo hengittää. Jos ihoärsytystä tai ihottumaa ilmenee: Hakeudu lääkäriin. Jos ilmenee hengitysoireita: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin. Kontaminoituneet vaatteet on pestävä ennen uudelleenkäyttöä. Sisältö/säiliö on hävitettävä paikan päällä paikallisten/alueellisten/kansallisten/kansainvälisten säädösten mukaisesti.

Reagenssin valmistelu

Katso määritysparametrit laitteen käyttöohjeista. Lisäohjeita muita analysaattoreita varten löydät analysaattorikohtaisesta työohjeesta. Käytä seuraavien liuosten valmistelussa kylmiä (2–8 °C) reagensseja ja puskureita. Poista pakkaus jääkaappisäilytyksestä juuri ennen liuosten valmistelua.

Jos materiaalia roiskuu, tee puhdistus ja materiaalin poisto laboratoriosi vakiokäytäntöjen sekä paikallisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.

Jos pakkaus on saapuessaan vaurioitunut, ota yhteyttä teknisen tuen edustajaasi (katso tämän pakkausselosteen takasivu).

Valmistele reagenssit seuraavassa järjestyksessä, jotta ehkäistään mahdollinen kontaminaatio:

R2-entsyymidonoriliuos: Yhdistä 2a-pullo (ED-reagenssi) 2-pulloon (ED-sekoitusliuos) mukana toimitettavalla liittimellä. Sekoita varovasti kääntämällä pulloa ja varmista, että kaikki lyofilisoitu materiaali siirtyy 2a-pullosta 2-pulloon. **Vältä vaahdon muodostumista.** Irrota 2a-pullo ja liitin 2-pullosta ja hävitä. Sulje täytetty 2-pullo ja anna sen seistä noin 5 minuuttia huonelämpötilassa (15–25 °C). Sekoita varovasti uudelleen ja merkitse rekonstituointipäivämäärä pullon etikettiin. Aseta pullo suoraan analysaattorin reagenssilokeroon tai kylmäsäilöön (2–8 °C) ja anna seistä 15 minuuttia ennen käyttöä.

R1-entsyymiakseptoriliuos: Yhdistä 1a-pullo (EA-reagenssi) 1-pulloon (EA-sekoitusliuos) mukana toimitettavalla liittimellä. Sekoita varovasti kääntämällä pulloa ja varmista, että kaikki lyofilisoitu materiaali siirtyy 1a-pullosta 1-pulloon. **Vältä vaahdon muodostumista.** Irrota 1a-pullo liittimestä ja hävitä. Sulje täytetty 1-pullo ja anna sen seistä noin 5 minuuttia huonelämpötilassa (15–25 °C). Sekoita varovasti uudelleen ja merkitse rekonstituointipäivämäärä pullon etikettiin. Aseta pullo suoraan analysaattorin reagenssilokeroon tai kylmäsäilöön (2–8 °C) ja anna seistä 15 minuuttia ennen käyttöä.

Jos 1-pullo ei mahdu analysaattoriin, käytä mukana toimitettuja kahta (2) pienempää tyhjää, puolisuunnikkaan muotoista pulloa. Kaada suuresta 1-pullosta kahteen pienempään pulloon yhtä suuret määrät liuosta.

Huomautus 1: Tämän pakkauksen mukana toimitetut komponentit on tarkoitettu käytettäväksi yhtenä kokonaisuutena. Älä sekoita keskenään CEDIA® MPA -analysointimenetelmän eri pakkauseristä tai muista CEDIA-pakkauksista olevia komponentteja.

Huomautus 2: Vältä reagenssien ristikontaminaatio sulkemalla reagenssipullot vain omilla korkeillaan. R2-liuoksen (ED-reagenssi) on oltava väriltään keltaoranssia. Punainen tai punavioletti väri tarkoittaa, että reagenssi on kontaminoitunut ja se on hävitettävä.

Huomautus 3: R1- ja R2-liuosten on oltava analysaattorin reagenssilokeron säilytyslämpötilassa ennen määrityksen suorittamista. Lisätietoa löydät analysaattorikohtaisesta työohjeesta.

Huomautus 4: Varmista uudelleen sekoitetun EA-reagenssin stabiilius suojaamalla se pitkään jatkuvalta altistukselta kirkkaalle valolle.

Säilytys

Säilytä komponentit oikeassa lämpötilassa. **EI SAA PAKASTAA.** Avaamattomien komponenttien viimeinen käyttöpäivä on merkitty pakkaukseen tai pullojen etikettiin.

R1-liuos: 60 päivää jäähdytettynä tai 2–8 °C:ssa

R2-liuos: 60 päivää jäähdytettynä tai 2–8 °C:ssa

Näytteen kerääminen ja käsittely

Käytä Na_2EDTA- tai K_2EDTA-plasmanäytteitä. Näytteet on säilytettävä huolellisesti koskemattomina keräyshetkestä määrityksen suorittamiseen. Näytteisiin on merkittävä verinäytteen ottoaika sekä viimeinen lääkkeenottoaika. Näytteet on säilytettävä suljettuina ja analysoitava 14 päivän kuluessa (säilytys 2–8 °C:ssa) (hyväksymiskriteeri +/- 10 % talteenotto) tai 5 kuukauden kuluessa (säilytys ≤ -20 °C:ssa).[4,13]. Vältä toistuvaa sulatusta ja pakastamista. Näytteisiin ei saa muodostua vaahtoa.

Viivakoodin käyttö: Reagenssien etiketeissä on viivakoodit, jotka useimmat analysaattorit ohittavat, jos ne eivät tunnista viivakoodeja. Jos analysaattori antaa virhekoodin, peitä viivakoodi läpinäkymättömällä teipillä. Ota tarvittaessa yhteys tekniseen tukeen.

Määritysmenetelmä

Kalibrointi

CEDIA MPA -analysointimenetelmä tuottaa standardikäyrän asianomaisten CEDIA MPA -kalibrointiliuosten avulla. Ennen potilasnäytteiden analysointia analysointimenetelmän kalibrointi on validoitava kontrolliaineilla CEDIA MPA -analysointimenetelmää varten määritetyillä talteenottoalueilla.

Huomautus: Jokaisessa CEDIA MPA -kalibrointiliuospakkauksessa on kalibraattoriarvojen määrityskortti. Tarkista kemian parametrit ennen uuden pakkauksen käyttöä varmistaaksesi, että kalibrointiliuospitoisuudet vastaavat arvojen määrityskortin tietoja.

Kalibrointitaajuus

Uudelleenkalibrointia suositellaan

- laadunvalvontatoimenpiteiden sitä vaatiessa, sekä
- reagenssipullon vaihtamisen jälkeen
- kalibraattorin tai reagenssierän vaihtamisen jälkeen
- kuukausittaisen instrumenttihuollon jälkeen.

Raportoitava alue

CEDIA MPA -analysointimenetelmän raportoitava alue on 0,3–10 µg/ml.

Alueen ulkopuolella olevat näytteet

Näytteet, joiden pitoisuus on >10 µg/ml voidaan raportoida toteamuksella "pitoisuus >10 µg/ml" tai laimentaa siten, että otetaan yksi osa alkuperäistä näytettä ja yksi osa negatiivista kalibrointiliuosta ja analysoidaan uudestaan. Uudelleenanalysoinnissa saatu arvo johdetaan seuraavasti:

Todellinen arvo = 2 x laimennettu arvo

Näytteet, joiden tulos on analysointimenetelmän toiminnallisen herkkyyden alapuolella, raportoidaan arvolla <0,3 µg/ml.

Laadunvalvonta ja kalibrointi

Kunkin laboratorion on määritettävä oma kontrollitiheys. Hyvien laboratoriokäytäntöjen mukaisesti on testattava vähintään kaksi laadunvalvonnan pitoisuutta (esim. lääkinnällisen päätöksen ylä- ja alataso) päivittäin, kun potilasnäytteitä analysoidaan, ja aina kun suoritetaan kalibrointi. Seuraa kontrolliarvoja mahdollisten suuntausten tai siirtymien havaitsemiseksi. Jos havaitset suuntauksia tai siirtymiä, tai jos kontrolliaineen talteenottoa ei tapahdu määritetyllä alueella, tarkista kaikki käytön parametrit. Jos haluat ohjeita ja suosituksia sopivasta kontrolliaineesta, ota yhteyttä Thermo Fisher Scientificin tekniseen tukeen. Kaikkien laadunvalvontatoimien on noudatettava paikallisia, valtiollisia ja/tai kansallisia määräyksiä tai akkreditointivaatimuksia.

Huomautus: Määritä kontrollitavoitteet ja -alueet uudelleen reagenssierän vaihdon jälkeen.

Rajoitukset - häiritsevät aineet

CEDIA® MPA -analysointimenetelmän ominaisuuksia ei ole määritetty muilla kehon nesteillä kuin ihmisen plasmalla.

Hyväksyntäkriteerit: Seuraavien häiriötietojen mukaisesti ominaisuudet arvioitiin hyväksyttäviksi (ei merkittävää häiriötä), kun MPA-talteenotto oli ± 0,3 µg/ml alkuperäisillä pitoisuuksilla < 3 µg/ml tai ± 10 % alkuperäisistä pitoisuuksista > 3 µg/ml.

Ikterus (keltaisuus): Ei merkittävää häiriötä konjugoimattomasta bilirubiinista 20 mg/dl pitoisuuteen saakka.

Lipemia: Ei merkittävää häiriötä triglyseridei stä 1 600 mg/dl pitoisuuteen saakka ja kolesterolista 400 mg/dl pitoisuuteen saakka.

Kokonaisproteiini: Ei merkittävää häiriötä kokonaisproteiinista 10 mg/dl saakka.

Reumatekijä: Ei merkittävää häiriötä reumatekijästä 2 000 IU/ml pitoisuuteen saakka.

Hemoglobiini: Ei merkittävää häiriötä hemoglobiinista 1 000 mg/dl pitoisuuteen saakka.

EDTA-pitoisuus: MPA-testaukseen suositeltiin plasmanäytteitä, jotka oli kerätty EDTA-antikoagulanttia sisältävään putkeen[15]. Merkittäviä häiriötä ei havaittu normaalilla näytemäärällä, joka kerättiin VACUTAINER® -putkeen (punavioletti tulppa). Jos kerätty näyte täyttää alle 1/3 putkesta, tuloksena oleva korkea EDTA-pitoisuus aiheuttaa suhteessa liian korkean MPA-pitoisuuden arvion.

Muut antikoagulantit: Vaikka EDTA-antikoagulanttia sisältävä plasma on suositeltu matriisi MPA-mittauksessa, testattiin myös hepariinin aiheuttama häiriö. Tästä antikoagulantista ei aiheutunut merkittävää häiriötä. Minkään antikoagulantin kohdalla kerätty näyte ei saa jäädä alle 1/3 putkesta CEDIA MPA -analysointimenetelmässä, koska tällöin MPA-talteenotto voi olla liian korkea.

E. coli β-galaktosidaasin vasta-aineet: Potilaita, joilla on E. coli β-galaktosidaasin vasta-aineita, on erittäin harvoin. Eräät tällaisia vasta-aineita sisältävät näytteet voivat kuitenkin antaa tulokseksi virheellisen korkeita MPA-pitoisuuksia, mikä voi olla ristiriidassa potilaan kliinisen profiilin kanssa. Jos epäilet tätä ilmiötä, ota yhteys Microgenicsin tekniseen tukeen.

Rajoitukset - analysointimenetelmien erot ja vaihtelut

Erilaiset immuunianalyysit voivat antaa erilaisia tuloksia samasta näytteestä, mikä johtuu analysointimenetelmiin liittyvistä vaihteluista metaboliittien ristireaktiivisuuden suhteen. Vaihtelu voi olla suurinta potilailla, joilla on heikentynyt puhdistuma (esim. munuaisten vajaatoiminta). Näillä potilailla tätä analysointimenetelmää voidaan tukea mykofenolihapolle tarkoitetulla kromatografiamenetelmällä. Ottaen huomioon mahdollinen vinouma tai hajonta CEDIA MPA -analysointimenetelmän ja HPLC:n vertailussa mykofenolihapon havaitsemiseksi näytteistä, on tärkeää, että jokainen laboratorio määrittelee oman hoitoalueensa oman potilaspopulaationsa perusteella.

Rajoitus - AcMPAG:n ristireaktiivisuus

Analysointimenetelmän ristireaktiivisuus suhteessa AcMPAG:hen on 158 %, mikä voi aiheuttaa positiivisen vinouman verrattuna sellaisiin menetelmiin, joilla ei ole ristireaktiivisuutta (kuten LC-MS/MS). Yksittäisen potilasnäytteen LCMS:ään liittyvä vinouma liittyy osittain kyseisen näytteen AcMPAG-pitoisuuteen.

Odotusarvot

Mykofenolihapon optimaalista hoitoaluetta plasmassa ei ole täysin määritetty. Lisäksi optimaaliset potilaan MPA-pitoisuusalueet voivat vaihdella analysointimenetelmästä ja sen metaboliittien ristireaktiivisuudesta riippuen (katso alla olevasta ristireaktiivisuusosiosta tämän analysointimenetelmän havaitut ristireaktiivisuudet). Sen vuoksi on määritettävä optimaaliset alueet jokaiselle kaupalliselle testille, eikä eri analysointimenetelmillä saatuja arvoja voi vaihdella keskenään eikä käyttää korjauskertoimia. Laboratorioiden on sisällytettävä käytetyn analysointimenetelmän tiedot potilasraportteihin tulosten tulkinnan helpottamiseksi.

Optimaaliset alueet riippuvat siirteen tyypistä ja samanaikaisesta muusta lääkityksestä sekä potilaan kliinisestä tilasta, yksilöllisestä herkkyydestä MPA:n immunosuppressiivisille ja toksisille vaikutuksille, siirteen asettamisesta kuluneesta ajasta ja monista muista tekijöistä. Yksittäisiä MPA-arvoja ei voi käyttää ainoana indikaattorina hoitosuunnitelman muutosten tekemisessä, ja jokainen potilas on arvioitava perusteellisesti kliinisesti ennen hoitosuunnitelman muuttamista. Jokaisen laitoksen on määritettävä optimaaliset alueet käytetyn analysointimenetelmän ja muiden potilaspopulaation kannalta keskeisten tekijöiden perusteella.

Kirjallisuusviitteissä on esimerkkejä tutkimuksista, joissa käsitellään havaittuja mykofenolihapon optimaalisia alueita[16-20]. Viitetiedoissa on otettava huomioon sellaiset asiat kuin käytetty tutkimusmenetelmä, erityiset kliiniset ominaisuudet ja näytteenottoajat.

Erityiset suorituskykyominaisuudet

Alla esitellään CEDIA MPA -analysointimenetelmän tyypilliset tiedot, jotka on saatu Hitachi 917 -analysaattorilla[10]. Eri laboratorioissa saadut tulokset voivat poiketa näistä tiedoista. Katso lisätietoja kunkin analysaattorin ominaisuuksista asianomaisista käyttöprotokollista tai ota yhteys Microgenicsin tekniseen tukeen.

Sisäinen tarkkuus

Sarjan sisäinen tarkkuus ja kokonaistarkkuus (toistettavuus) -tutkimukset tehtiin käyttäen sellaisilta elinsiirtopotilailta otettuja näytteitä, jotka käyttivät mykofenolaattimofetiilia (MMF), sekä plasmaa, johon oli lisätty mykofenolihappoa, ja kontrolliliuoksia. Pooli 2 muodostui elinsiirtopotilailta otetuista näytteistä ja poolit 1 ja 3 olivat MPA-negatiivisia plasmanäytteitä, joihin oli lisätty mykofenolihappoa. Kaikkia näytteitä analysoitiin yhteensä 21 testissä 11 päivän ajan käyttäen modifioitua CLSI-protokollaa (EP5A). Jokaisen testin yhteydessä suoritettiin kalibrointi. Tulokset on esitelty seuraavassa taulukossa.

Analysointimenetelmän sarjan sisäinen tarkkuus ja kokonaistarkkuus (toistettavuus)

			Sarjan sisällä		Kokonaan	
Näyte	**N**	**Keskiarvo**	**SD**	**CV%**	**SD**	**CV%**
Potilaspooli 1	126	1,0	0,06	5,6	0,08	7,7
Potilaspooli 2	126	2,4	0,07	2,8	0,09	4,0
Potilaspooli 3	126	6,0	0,09	1,5	0,14	2,3
Kontrolliaine 1	126	1,1	0,06	5,5	0,10	9,5
Kontrolliaine 2	126	2,7	0,06	2,2	0,13	4,8
Kontrolliaine 3	126	5,9	0,12	2,0	0,20	3,3

Lineaarisuus

Analysointimenetelmän lineaarisuuden arviointia varten korkean pitoisuuden omaava potilaan plasmanäyte laimennettiin käyttäen MPA-vapaata plasmanäytettä, jolloin saatiin näytesarja analysointimenetelmän dynaamiselta alueelta. Jokainen näyte testattiin toistuvasti 5 kertaa ja keskiarvoa käytettiin mitattuna tuloksena. Talteenottoprosentti määritettiin jakamalla havaittu MPA-pitoisuus odotuspitoisuudella. Odotuspitoisuudet määritettiin käyttämällä korkein testattu pitoisuus x laimennuskerroin -kaavaa.

Laimennettu Näytteet	Odotus-arvo (µg/ml)	Mitattu arvo (µg/ml)	Talteenotto (%)
Taso 1	9,8	9,8	-
Taso 2	7,4	7,4	100
Taso 3	4,9	4,9	100
Taso 4	3,4	3,3	97
Taso 5	2,5	2,3	92
Taso 6	1,0	0,9	90
Taso 7	0,5	0,4	80
Taso 8	0,0	0,0	-

Talteenotto

Analysointimenetelmän talteenoton arvioimiseksi mykofenolihappoa lisättiin normaaliin MPA-vapaaseen plasmaan sekä elinsiirtopotilaan näytteisiin, jotka sisälsivät mykofenolihappoa. Näyte testattiin 21 toistokokeessa normaalin plasmamatriisin suhteen ja viidessä toistokokeessa siirrenäytematriisin suhteen. Talteenotto laskettiin jakamalla kunkin näytteen havaittu pitoisuus lisätyn mykofenolihapon ja näytteissä alun perin olleen mykofenolihapon yhteenlasketulla odotuspitoisuudella.

MPA-vapaa plasma

Odotusarvo (µg/ml)	Mitattu arvo (µg/ml)	Talteenotto (%)
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

Siirrepotilaan plasma

Odotusarvo (µg/ml)	Mitattu arvo (µg/ml)	Talteenotto (%)
Potilas 1		
0,5	0,5	-
1,0	1,0	100
2,5	2,6	104
Potilas 2		
2,4	2,4	-
3,4	3,3	97
6,9	6,8	99

Spesifisyys

Erilaisia MPA-glukuronidimetaboliittipitoisuuksia lisättiin plasmaan, joka sisälsi mykofenolihappoa, ristireaktiivisuuden testaamiseksi. Yhdisteiden arvioitu ristireaktiivisuus laskettiin kaavasta ja tulokset näkyvät alla.

$$\frac{\text{(Mitattu pitoisuus - kontrolliliuospitoisuus) x 100 \%}}{\text{Testattu ristiin reagoiva aine}}$$

Ristireaktiivisuus MPA-metaboliiteilla

Yhdiste	Testattu pitoisuus (µg/ml)	Ristireaktiivisuus (%)
7-O-glukuronidi MPA (MPAG)	1000	0,0
Asyyliglukuronidi MPA (AcMPAG)	10,0 3,0 1,8 0,9 0,3	164,0 170,0 144,4 177,8 133,3 Keskimäärin 158

Huomautus: AcMPAG:n aiheuttamasta ristireaktiivisuudesta johtuen CEDIA MPA -analysointimenetelmässä on oletettavaa, että CEDIA MPA -analysointimenetelmän ja LC-MS/MS-menetelmän välillä on mahdollisesti positiivinen vääristymä.

Muilta immunosuppressiivisilta lääkkeiltä testattiin niiden ristireaktiivisuus analysointimenetelmään nähden. Alla mainituilla yhdisteillä ei ilmennyt ristireaktiivisuutta testatulla pitoisuudella CEDIA MPA -analysointimenetelmässä.

Yhdisteet	Testattu pitoisuus, µg/ml
Sirolimuusi	0,3
Takrolimuusi	0,3
Syklosporiini	10

Yleiset lääkkeet testattiin MPA-vapaasta plasmasta analysointimenetelmän ristireaktiivisuuden suhteen. Alla mainituilla yhdisteillä ei ilmennyt ristireaktiivisuutta testatulla pitoisuudella CEDIA MPA -analysointimenetelmässä.

Yhdisteet	Testattu pitoisuus, µg/ml
Asetaminofeeni	100
N-asetyyliprokaiiniamidi	100
Asikloviiri	100
Amikasiini	100
Amfoterisiini B	50
Ampisilliini	100
Atsatiopriini	100
Karbamatsepiini	100
Kloramfenikoli	100
Simetidiini	100
Siprofloksasiini	100
Digoksiini	10
Digitoksiini	10
Disopyramidi	100
Erytromysiini	100
Flukonatsoli	100
Fluorosytosiini	100
Furosemidi	100
Gansikloviiri	100
Gentamysiini	100
Hydrokortisoni	100
Itrakonatsoli	100
Kanamysiini A	100
Kanamysiini B	100
Ketokonatsoli	100
Lidokaiini	100
Metyyliprednisoloni	100
Morfiini	100
Penisilliini	100
Fenobarbitaali	100
Fenytoiini	100
Pratsosiini	100
Prednisoloni	100
Prednisoni	100
Prokainamidi	100
Kinidiini	100
Rifampisiini	60
Natriumsalisylaatti	50
Spektinomysiini	100
Streptomysiini	100
Teofylliini	100
Tobramysiini	100
Triamtereeni	100
Valproiinihappo	100
Vankomysiini	100
Verapamiili	100

Pienin havaittavissa oleva annos

Pienin havaittavissa oleva annos (LLD) on alhaisin pitoisuus, jonka 95 prosentin luottamusvälillä voi nollasta erottaa. 21 MPA-negatiivisesta plasmanäytteestä testattiin pienin havaittavissa oleva annos (LDD), joka oli 0,2 µg/ml.

Toiminnallinen herkkyys

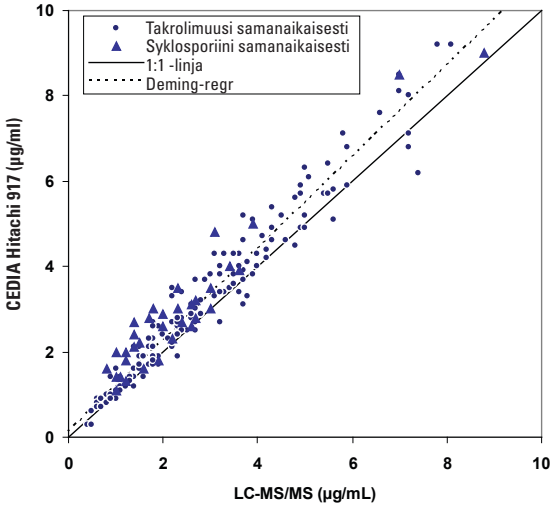
Toiminnallinen herkkyys eli pienin lääkepitoisuus, jolla saadaan vaihtelukerroin (CV) < 20 %, on 0,3 µg/ml CEDIA MPA -analysointimenetelmässä. Tällä pitoisuudella vinouma on noin 0,01 µg/ml, talteenotto 104 % ja vaihtelukerroin 17,6 %.

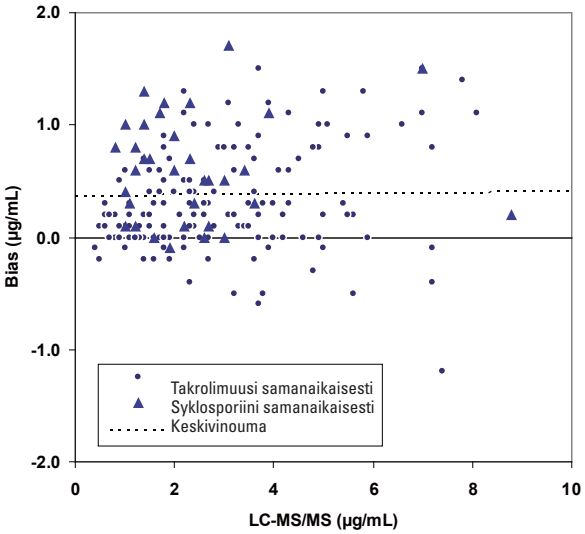
Vertailumenetelmä

Yhteensä 188 lääkettä edeltävää näytettä aikuisilta siirrepotilailta, joita hoidettiin mykofenolaattimofetiililla tai mykofenolaatin natriumilla, testattiin vertailevassa tutkimuksessa käyttäen vertailumenetelmänä LC-MS/MS-menetelmää. Seuraavassa taulukossa on yhteenveto tutkimuksen tuloksista, ja siinä esitetään erilliset analyysit siirteen mukaan sekä yhteisesti käyttäen EP-evaluaattoria. Regressiomenetelmäsarakkeessa esitetään kulmakertoimen ja leikkauskohdan tulokset sekä suluissa 95 % luottamusvälit.

Näyte	N	Regressiomenetelmä		r
Plasma sydän	96	PNS-kulmakerroin PNS-leikkauspiste	1,114 (1,061–1,166) 0,20 (0,05–0,36)	0,9743
		Deming-kulmakerroin Deming-leikkauspiste	1,147 (1,094–1,200) 0,12 (-0,04–0,28)	
Plasma munuainen	92	PNS-kulmakerroin PNS-leikkauspiste	1,127 (0,974–1,080) 0,16 (-0,03–0,36)	0,9711
		Deming-kulmakerroin Deming-leikkauspiste	1,060 (1,006–1,113) 0,06 (-0,13–0,25)	
Plasma kaikki	188	PNS-kulmakerroin PNS-leikkauspiste	1,054 (1,015–1,092) 0,22 (0,09–0,34)	0,9698
		Deming-kulmakerroin Deming-leikkauspiste	1,089 (1,051–1,128) 0,12 (-0,01–0,25)	

Suurimmalle osalle potilaita annettiin samanaikaisesti takrolimuusia (n=153), ja tämä on kuvattu seuraavissa kaavioissa ympyröillä. Muille annettiin samanaikaisesti syklosporiinia (n=34), ja tämä on kuvattu seuraavissa kaavioissa kolmioilla.





N = 188
Keskiarvo (Y-X) = 0,37
SD (Y-X) = 0,47
1,96 SD = 0,92
Keskiarvo + 1,96 SD = 1,29
Keskiarvo – 1,96 SD = -0,55

Lähdeviitteet

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.

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

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Asiakaspalvelu
ja tekninen tuki Yhdysvalloissa:
1-800-232-3342

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

Tuoteselosteen päivitykset löytyvät osoitteesta
www.thermoscientific.com/diagnostics

Muut maat:
Ota yhteyttä paikalliseen Thermo Fisher Scientificin edustajaan.

CEDIA on Roche Diagnosticsin rekisteröity tavaramerkki.

10009470-14-FI
2024 01

Thermo SCIENTIFIC