CEDIA® mikofenolsavas vizsgálat

Thermo SCIENTIFIC

IVD **In vitro diagnosztikai felhasználásra**

Rx Only

REF 100276

Rendeltetés

A CEDIA® mikofenolsavas (MPA) vizsgálat in vitro orvosi diagnosztikai eszköz a humán plazma mikofenolsav tartalmának automatikus klinikai kémiai analizátorokkal végzett mennyiségi mérésére a vese- és szívátültetésen átesett betegek mikofenolsavas terápiájának támogatása érdekében.

A vizsgálat összefoglalása és magyarázata

A mikofenolát-mofetil (MMF, CellCept®) vagy mikofenolát-nátrium prekurzorból metabolizált mikofenolsavat (MPA) széles körben alkalmazzák a kilökődés megakadályozására vese-, szív- vagy májátültetésben részesült betegeknél[1-5]. Alkalmazás után a mikofenolát-mofetil és mikofenolát-nátrium gyorsan és bőségesen abszorbeálódik és mikofenolsavvá hidrolizál[1-4]. Biokémiailag a mikofenolsav az inozin-monofoszfát dehidrogenáz (IMPDH), a B és T limfociták által használt purin de novo szintéziséhez szükséges enzim erőteljes és specifikus inhibitora[1-6]. Az IMPDH inhibitálása MPA segítségével a de novo purin szintézistől való függésük miatt elnyomja a B és T sejtek szaporodását, így immunelnyomást eredményez. Klinikailag releváns koncentrációban az MPA kicsi, 13 μM[3, 7-8] értékű disszociációs állandóval körülbelül 97%-ban a humán szérum albuminhoz kötődik . A betegekben az UDP-glukoronozil-transzferáz a mikofenolsavat főként a mikofenolsav farmakológiai szempontból inaktív[1-3] fenolos glukoronidjává (MPAG), továbbá kisebb mértékben az MPA acil-glukoronidjává (AcMPAG) tovább metabolizálja. Az AcMPAG és MPA egymáshoz viszonyított aránya betegről betegre nagymértékben változik[9-11], ami az egyidejűleg adott egyéb gyógyszerekkel, mintavételi idővel vagy egyéb tényezőkkel hozható kapcsolatba. Az AcMPAG és MPA egymáshoz viszonyított mólaránya az AUC alapján Tedesco-Silva és munkatársai szerint körülbelül 17-20% közötti (tömegarányban 26-31%)[9], Shipkova és munkatársai szerint körülbelül 10% (tömegarányban 13-17%)[10] értéknek adódott. Kuypers és munkatársai[11] 5,7-15,4% közötti értéket tapasztaltak. Az MPA monitorozása a gyógyszerek hatékony alkalmazása és a betegekben tapasztalt kedvezőtlen mellékhatások minimálisra csökkentése szempontjából fontos lehet[1, 4].

A CEDIA MPA vizsgálat az egyedülálló, homogén enzimes immunvizsgálati rendszer előállításához rekombináns DNS-technológiát (4708929 számú USA-szabadalom) alkalmaz[12]. A vizsgálat a β-galaktozidáz enzimen alapul, amit géntechnológiával két inaktív, enzim-donornak (ED) és enzim-akceptornak (EA) elnevezett fragmentummá alakítottak. Ezek a fragmentumok spontán módon újra egyesülnek és teljesen aktív enzimeket hoznak létre, amelyek vizsgálati formájukban széthasítják a hordozót és színváltozást hoznak létre, ami spektrofotometriásan mérhető.

A vizsgálatban a mintában lévő analit a β-galaktozidáz ED-hez konjugált analittal verseng a korlátozott számú antitest-megkötő helyért. Ha a mintában van analit, az antitesthez kötődik és így az ED-konjugátumot szabadon hagyja ahhoz, hogy az EA-val aktív enzimeket alkosson. Ha a mintában nincs analit, az antitest az ED-hez konjugált analithoz kötődik, így megakadályozza az ED újbóli EA-hoz kötődését és nem képződik aktív enzim. A képződött aktív enzim mennyisége és az ennek eredményeként az abszorbancia változása egyenesen arányos a mintában lévő gyógyszer mennyiségével.

Reagensek/kalibrátorok

1 **EA előkészítő puffer:** Tartalma: TES {N-[Trisz (hidroximetil) metil]-2-aminoetán-szulfonsav}, anti-MPA poliklón antitestek, stabilizátor és tartósítószer (1 x 26 ml).

1a **EA reagens:** Tartalma 0,118 g/liter enzim akceptor (mikrobás), puffersók és tartósítószer (liofilizált).

2 **ED előkészítő puffer:** Kálium-foszfátot, detergenst és tartósítószert tartalmaz (1 x 11 ml).

2a **ED reagens:** Tartalma 58 μg/liter MPA konjugált enzim donor (mikrobás), 3,0 g/liter klórfenol-vörös-β-D-galaktopiranozid, stabilizátorok és tartósítószer (liofilizált)

További szállított anyagok:

Két (2) üres, 20 ml-es palack.

További szükséges, de nem szállított anyagok:

REF	Készlet leírása
100277	CEDIA® Mikofenolsavas kalibráló készlet
100278	MAS® Mikofenolsavas 1. ellenőrző készlet
100279	MAS Mikofenolsavas 2. ellenőrző készlet
100280	MAS Mikofenolsavas 3. ellenőrző készlet

Automata klinikai kémiai analizátor

⚠ Óvintézkedések és figyelmeztetések

Tartsa be a laboratóriumi reagensek kezelése során előírt szokásos óvintézkedéseket.

VIGYÁZAT: A MAS MPA kontrollok készítéséhez használt emberi eredetű anyagokat az FDA által jóváhagyott módszerrel vizsgálták a HIV1 és 2, hepatitisz B és hepatitisz C vírusok jelenlétére és az eredmények negatívak. Ugyanakkor nem létezik olyan vizsgálati módszer, amellyel teljes bizonyossággal kizárható a fertőzés kockázata, ezért az anyagot az OSHSA vérrel szállított patogénekre vonatkozó előírásai szerint fertőzőként kell kezelni. Expozíció esetén az illetékes egészségügyi hatóságok által kiadott irányelveket kell követni.

VESZÉLY: A por alapú reagens ≤56 tömeg% szarvasmarha szérum-albumint (BSA) és ≤2,0 tömeg% nátrium-azidot tartalmaz. A folyékony reagens ≤1,0% marhaszérumot, ≤0,3% nátrium-azidot, ≤0,1% gyógyszerspecifikus antitestet és ≤2,0% antiszérumot (kecske) tartalmaz.
H317 – Allergiás bőrreakciót válthat ki.
H334 – Belélegezve allergiás vagy asztmás tüneteket, illetve nehézlégzést okozhat.
EUH032 – Savval érintkezve nagyon mérgező gáz szabadul fel.

Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. Viseljen védőkesztyűt/szemvédőt/arcvédőt. Nem megfelelő szellőzés esetén légzésvédelem kötelező. Ha bőrre kerül: Bő szappanos vízzel le kell mosni. BELÉLEGZÉS ESETÉN: Légzési nehézség esetén a sérültet friss levegőre kell vinni és a légzéshez kényelmes módon nyugalmi helyzetben kell tartani. Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: Orvosi tanácsot/ellátást kell kérni. Légzési problémák esetén: forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. A szennyezett ruhát újbóli használat előtt ki kell mosni. A tartalmat/edényt a helyi, regionális, országos és nemzetközi szabályok betartásával kell elhelyezni, ártalmatlanítani.

Reagens készítése

A vizsgálati paramétereket illetően tekintse meg az adott műszer alkalmazási lapját. A következő oldatokat hűtött (2-8 °C) reagensek és pufferek felhasználásával készítse el. A készletet közvetlenül a munkaoldatok elkészítése előtt vegye ki a hűtőből.

Véletlen kiömlés esetén az illető anyagot tisztítsa fel és távolítsa el hulladékként a laboratórium normál üzemeltetési eljárásainak és az országos és helyi előírásoknak megfelelően.

Ha egy szállított anyagnak a megérkezésekor sérült a csomagolása, vegye fel a kapcsolatot a műszaki támogatás képviselőjével (az elérhetőségeket lásd a tájékoztató végén).

A kontamináció lehetőségének minimálisra csökkentéséhez a reagenseket a következő sorrendben készítse el.

R2 enzim donor oldat: A 2a palackot (ED reagens) a mellékelt adapterek egyikével csatlakoztassa a 2. palackhoz (ED előkészítő puffer). Kíméletes felfordítással keverje össze és győződjön meg arról, hogy a liofilizált anyag a 2a palackból teljesen átjutott a 2. palackba. **Kerülje a habképződést.** A 2a palackot és az adaptert válassza le a 2. palackról és dobja ki. Kupakkal zárja le a 2. palackot és körülbelül 5 percig hagyja állni szobahőmérsékleten (15-25 °C). Ismét keverje meg kíméletesen és a palack címkéjén jegyezze fel az előkészítési dátumot. A palackot helyezze be közvetlenül az analizátor reagens rekeszébe vagy hűtőszekrénybe (2-8 °C) és használat előtt hagyja 15 percig állni.

R1 enzim akceptor oldat: Az egyik mellékelt adapterrel csatlakoztassa az 1a (EA reagens) palackot az 1. palackhoz (EA előkészítő puffer). Kíméletes felfordítással keverje össze és győződjön meg arról, hogy a liofilizált anyag az 1a palackból teljesen átjutott az 1. palackba. **Kerülje a habképződést.** Válassza le az 1a palackot az adapterről és dobja ki. Kupakkal zárja le az 1. palackot és körülbelül 5 percig hagyja állni szobahőmérsékleten (15-25 °C). Ismét keverje meg kíméletesen és a palack címkéjén jegyezze fel az előkészítési dátumot. A palackot helyezze be közvetlenül az analizátor reagens rekeszébe vagy hűtőszekrénybe (2-8 °C) és használat előtt hagyja 15 percig állni.

Arra az esetre, ha az analizátorba nem férne bele az 1-es palack, két (2) kisebb, üres, trapéz alakú palackot is mellékeltünk. Dekantálja a nagy 1-es palack tartalmát a két kisebb palackba, egyenlő részben elosztva a tartalmat.

1. megjegyzés: Az ebben a készletben szállított komponenseket egységes egészként való felhasználásra szánták. Ne keverje össze különböző adagszámú CEDIA® MPA vizsgálat vagy egyéb CEDIA készletek komponenseit.

2. megjegyzés: A reagenskupakok megfelelő reagens palackra való felhelyezésével kerülje a reagensek keresztszennyeződését. Az R2 oldat (ED reagens) sárga-narancssárga kell hogy legyen. A piros vagy bíborvörös szín azt jelzi, hogy a reagens szennyeződött, ezért ki kell dobni.

3. megjegyzés: A vizsgálat elvégzése előtt az R1 és R2 oldatokat az analizátor reagens rekeszének hőmérsékletén kell tartani. A további információt lásd az analizátor saját alkalmazási lapján.

4. megjegyzés: Az előkészített EA reagens stabilitásának biztosítására védje az erős fény hosszan tartó hatásától.

Tárolási körülmények

A komponenseket tartsa a megfelelő hőmérsékleten. **LEFAGYASZTÁSUK TILOS.** A fel nem bontott komponensek stabilitását illetően lásd a doboz vagy palack címkéjén a lejárati időt.

R1 oldat: Hűtve vagy 2-8 °C hőmérsékleten 60 nap

R2 oldat: Hűtve vagy 2-8 °C hőmérsékleten 60 nap

Minták gyűjtése és kezelése

Használjon Na_2EDTA vagy K_2EDTA plazma mintákat. Ügyelni kell arra, hogy a minta a levétel és a vizsgálat elvégzése között épségben maradjon. A minták címkéjén fel kell tüntetni a vérvétel és az utolsó gyógyszerbeadás időpontját is. A mintákat kupakkal le kell zárni és 2-8 °C közötti hőmérsékleten tárolva 14 napon belül (elfogadási kritérium +/- 10% visszanyerés) vagy ≤ -20 °C[4,13] hőmérsékleten tárolva 5 hónapon belül meg kell vizsgálni. Kerülje az ismételt lefagyasztást és kiolvasztást. Kerülni kell a minták habzását.

A vonalkód használata: A reagenscímkéken van egy rendszervonalkód, amelyet a legtöbb analizátor figyelmen kívül hagy, ha nem ismer fel. Ha az analizátor hibakódot ad, ragassza le a vonalkódot szigetelőszalaggal. Szükség esetén forduljon segítségért a műszaki ügyfélszolgálathoz.

Vizsgálati eljárás

Kalibrálás

A CEDIA MPA vizsgálat a megfelelő CEDIA MPA kalibrátorokkal standard görbét állít elő. A betegminták vizsgálata előtt a CEDIA MPA vizsgálatra megállapított visszanyerési tartományú kontrollminta vagy kontrollminták vizsgálatával validálja a vizsgálat kalibrációját.

Megjegyzés: Minden CEDIA MPA kalibrátorkészletben található egy kalibrátor értékeket kijelölő kártya. Új készlet használata előtt ellenőrizze a kémiai paramétereket és győződjön meg arról, hogy a kalibrátor-koncentrációk megegyeznek a kijelölő kártyán feltüntetett értékkel.

A kalibrálás gyakorisága

Újrakalibrálás ajánlott

- Igény szerint, követve az Ön laboratóriumának minőségellenőrzési eljárásait, és
- A reagenspalack cseréje után
- A kalibrátor vagy a reagens (készlet) tétel cseréje után
- A készülék havi karbantartásának elvégzése után

Szóródási tartomány

A CEDIA MPA vizsgálat jelenthető tartománya 0,3 és 10 µg/ml közötti.

Mérési tartományon kívüli minták

A mennyiségi elemzéssel >10 µg/ml eredményt adó minták „A koncentráció értéke >10 µg/ml" szöveggel jelenthetők, vagy egy rész eredeti mintát egy rész negatív kalibrátorral összekeverve újra kell vizsgálni. Az újbóli vizsgálattal kapott értéket az alábbiak szerint kell származtatni:

Tényleges érték = hígítással kapott érték x 2

A vizsgálat funkcionális érzékenysége alatti eredményeket adó mintákat <0,3 µg/ml értékkel kell jelenteni.

Minőségellenőrzés és kalibrálás

Minden laboratóriumnak ki kell alakítania saját ellenőrzési gyakoriságát. A jó laboratóriumi gyakorlat azt javasolja, hogy minden olyan napon, amikor betegmintákat vizsgálnak, a minőségellenőrzést legalább két koncentrációnál (például magas és alacsony orvosi döntési pontoknál) kell megvizsgálni és minden egyes alkalommal kalibrálni kell. Figyelje az ellenőrző értékek bármilyen trendjét vagy eltolódását. Ha bármilyen trendet vagy eltolódást érzékel, vagy ha a kontrollminták nem a megadott tartományon belüliek, vizsgálja át az összes működési paramétert. További segítségért és az alkalmas ellenőrző anyaggal kapcsolatos ajánlásokért vegye fel a kapcsolatot a Microgenics műszaki segélyszolgálatával. Minden minőségellenőrzési követelményt a helyi, állami és/vagy kormányzati szabályozásnak, illetve akkreditációs előírásoknak megfelelően kell teljesíteni.

Megjegyzés: A reagenskészlet (gyártási tétel) változása után értékelje újra az ellenőrzési célértékeket és tartományokat.

Korlátozások - interferáló anyagok

A CEDIA® MPA vizsgálat teljesítmény-jellemzőit a humán plazmán kívül más testfolyadékra nem állapították meg.

Elfogadhatósági feltételek: Az alábbi interferencia-információt tekintve a teljesítmény elfogadhatónak (jelentős interferencia nélkülinek) tekinthető, ha az MPA visszanyerés ± 0,3 µg/ml közötti < 3 µg/ml kezdeti koncentráció mellett, vagy ± 10%, ha a kezdeti koncentráció > 3 µg/ml.

Sárgaság: 20 mg/dl koncentrációig a nem konjugált bilirubinból nem származik jelentős interferencia.

Lipémia: A trigliceridektől 1600 mg/dl koncentrációig, a koleszterintől 400 mg/dl koncentrációig nincs számottevő interferencia.

Összes fehérje: Az összes fehérjétől 10 g/dl koncentrációig nincs jelentős interferencia.

Reumafaktor: A reumafaktortól 2000 NE/ml koncentrációig nincs számottevő interferencia.

Hemoglobin A hemoglobintól 1000 mg/dl koncentrációig nem származik jelentős interferencia.

EDTA koncentráció: Az MPA-vizsgálathoz EDTA antikoagulánst tartalmazó csőben gyűjtött plazmamintákat ajánlanak[15]. A VACUTAINER® (bíbor dugós) eszközben gyűjtött normális mennyiségű mintával nem tapasztalható jelentős mértékű interferencia. Ugyanakkor ha a gyűjtött minta a cső kevesebb, mint 1/3-át tölti fel, az ennek eredményeként létrejövő nagy EDTA-koncentráció az MPA-koncentráció relatív túlértékelését okozza.

Egyéb véralvadásgátlók: Noha az MPA-mérésekhez a plazmát tartalmazó alvadásgátló EDTA a preferált mátrix, az interferenciához megvizsgálták a heparint. Ezzel az alvadásgátlóval nem tapasztaltak jelentős interferenciát. Az összes alvadásgátló esetén a CEDIA MPA vizsgálathoz egyetlen gyűjtött minta sem lehet kevesebb, mint a cső 1/3-a, mert így arra hajlamos, hogy nagyobb MPA-visszanyerést ad.

E. coli β-galaktozidáz antitestek: Az E. coli β-galaktozidáz antitestekkel rendelkező betegek előfordulása rendkívül alacsony. Ugyanakkor néhány, ezt az antitestet tartalmazó minta tévesen nagy MPA-koncentrációt adhat, ami a beteg klinikai profiljával nem konzisztens. Ha ennek előfordulását feltételezi, a támogatásért vegye fel a kapcsolatot a Microgenics műszaki segélyszolgálatával.

Korlátozások – Vizsgálati eltérések és variáció

A különféle immunvizsgálatok a metabolit kereszt-reaktivitásának vizsgálattól függő változásai miatt ugyanarra a mintára eltérő eredményeket adhatnak. A romlott kiválasztó képességű (például veseelégtelenségben szenvedő) betegek mutathatják a legnagyobb eltéréseket. Ilyen betegeknél ez a vizsgálat az MPA-ra specifikus kromatográfiás módszerrel támogatható. Az MPA mintákban való kimutatására használt CEDIA MPA vizsgálat és HPLC összehasonlításának eltolódása vagy szórása miatt fontos, hogy minden laboratórium a saját betegeire alapozva létrehozza saját terápiás tartományát.

Az AcMPAG kereszt-reaktivitásának korlátai

A vizsgálat kereszt-reaktivitása AcMPAG anyagra 158%, ami más módszerekkel, például a kereszt-reaktivitás nélküli LC-MS/MS módszerekkel összehasonlítva pozitív eltolódást okozhat. Bármelyik egyedi betegmintánál az LC-MS módszerhez viszonyított eltolódás részben az adott mintában az AcMPAG koncentrációjával kapcsolatos.

Várható értékek

Az MPA optimális terápiás tartománya a plazmában nincs teljesen meghatározva. Ezen kívül az MPA optimális koncentráció-tartománya a betegekben az egyes vizsgálatoktól és a vizsgálatok metabolitjainak kölcsönhatása miatt változhat (az ezzel a vizsgálattal tapasztalt kölcsönhatásokra vonatkozóan lásd az alábbiakban a kölcsönhatási fejezetet). Ezért minden kereskedelmi tesztre optimális tartományokat kell megállapítani, és a különböző vizsgálatokkal kapott értékek egymással felcserélve nem használhatók, és nem szabad korrekciós faktorokat alkalmazni. Az eredmények értékelésének támogatására a betegjelentésekben a laboratóriumoknak azonosítaniuk kell az alkalmazott vizsgálatot.

Az optimális tartományok a transzplantáció típusától és az egyidejűleg adott gyógyszerektől, valamint a beteg klinikai állapotától, az MPA immunelnyomó és toxikus hatásai iránti érzékenység egyedi különbségeitől, a transzplantáció óta eltelt időtől és sok más tényezőtől függnek. Az egyéni MPA-értékek önmagukban nem használhatók arra, hogy azok alapján módosítsák a kezelést, és a kezelés módosítása előtt minden egyes beteget klinikailag alaposan értékelni kell. Minden intézménynek meg kell határoznia az általuk alkalmazott vizsgálaton és a betegeikre vonatkozó egyéb tényezőkön alapuló optimális tartományokat.

A hivatkozások példákat tartalmaznak az MPA megfigyelt optimális tartományait tárgyaló szakirodalomra[16-20]. Ezekben a hivatkozásokban felhívjuk a figyelmet egyes jellegzetességekre, például specifikus vizsgálatokra, specifikus klinikai jellemzőkre és mintavételi időkre.

Specifikus teljesítményjellemzők

Az alábbiakban megadjuk a Hitachi 917 analizátoron végzett CEDIA MPA vizsgálat jellemző teljesítményadatait[10]. Az egyes laboratóriumban mért értékek ezektől az adatoktól eltérőek lehetnek. Az analizátor teljesítményére vonatkozó további adatokat lásd az analizátor specifikus alkalmazási protokolljában vagy kérjen segítséget a Microgenics műszaki ügyfélszolgálatától.

Precizitás

A sorozaton belüli és összes sorozatra vonatkozó precizitási (reprodukálhatósági) vizsgálatokat transzplantált betegekből származó mintákon végezték el MMF, MPA-val jelölt plazma és kontrollminták segítségével. A 2. csoport transzplantált betegekből származó mintákkal készült, az 1. és 3. csoport MPA-negatív, MPA-val jelölt plazmaminta. Valamennyi mintát 11 napon át vizsgálták összesen 21 sorozatban a CLSI (EP5A) módosított protokolljával. Minden sorozathoz végrehajtották a kalibrálást. Az eredményeket az alábbi táblázat tartalmazza.

Sorozaton belüli és teljes vizsgálati precizitás (reprodukálhatóság)

			Sorozaton belül		Összes sorozat	
Minta	**N**	**Átlag**	**SD**	**CV%**	**SD**	**CV%**
1. betegcsoport	126	1,0	0,06	5,6	0,08	7,7
2. betegcsoport	126	2,4	0,07	2,8	0,09	4,0
3. betegcsoport	126	6,0	0,09	1,5	0,14	2,3
1. kontroll	126	1,1	0,06	5,5	0,10	9,5
2. kontroll	126	2,7	0,06	2,2	0,13	4,8
3. kontroll	126	5,9	0,12	2,0	0,20	3,3

Linearitás

A vizsgálat linearitásának értékeléséhez egy beteg nagy koncentrációjú mintáját MPA-mentes plazmamintával hígították és így előállítottak egy olyan mintasorozatot, amely lefedi a vizsgálat dinamikus tartományát. Minden mintát öt párhuzamossal vizsgáltak és az átlagértéket tekintették mért eredménynek. A százalékos visszanyerést úgy határozták meg, hogy a mért MPA-koncentrációt elosztották a várt koncentrációval. A várt koncentrációkat úgy határozták meg, hogy a vizsgált legnagyobb koncentrációt megszorozták egy hígítási tényezővel.

Hígított minták	Várt érték (µg/ml)	Mért érték (µg/ml)	Visszanyerés (%)
1. szint	9,8	9,8	-
2. szint	7,4	7,4	100
3. szint	4,9	4,9	100
4. szint	3,4	3,3	97
5. szint	2,5	2,3	92
6. szint	1,0	0,9	90
7. szint	0,5	0,4	80
8. szint	0,0	0,0	-

Visszanyerés

A vizsgálat visszanyerésének értékeléséhez a normál MPA-mentes plazmához és a transzplantált betegek MPA-tartalmú mintáihoz MPA-t adtak. A mintát a normál plazma mátrixra 21 párhuzamossal, a transzplantált minta mátrixra 5 párhuzamossal vizsgálták. A visszanyerést úgy számították, hogy az egyes minták mért koncentrációját elosztották a hozzáadott MPA és a mintákban eredetileg meglévő MPA összegével.

MPA-mentes plazma

Várt érték (µg/ml)	Mért érték (µg/ml)	Visszanyerés (%)
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

Tx beteg plazma

Várt értékek (µg/ml)	Mért érték (µg/ml)	Visszanyerés (%)
1. beteg		
0,5	0,5	-
1,0	1,0	100
2,5	2,6	104
2. beteg		
2,4	2,4	-
3,4	3,3	97
6,9	6,8	99

Specificitás

A kölcsönhatás vizsgálatához az MPA-t tartalmazó plazmához különböző koncentrációjú MPA-glukoronid metabolitokat adtak. A vegyületek becsült kölcsönhatását a képlettel számították, az eredményeket az alábbi táblázat tartalmazza.

$$\frac{\text{(mért koncentráció - kontroll koncentráció)} \times 100\%}{\text{vizsgált kölcsönhatási koncentráció}}$$

Kölcsönhatás MPA metabolitokkal

Vegyület	Vizsgált koncentráció (µg/ml)	Kölcsönhatás (%)
7-O-glukoronid MPA (MPAG)	1000	0,0
Acil-glukoronid MPA (AcMPAG)	10,0 3,0 1,8 0,9 0,3	164,0 170,0 144,4 177,8 133,3 Átlag 158

Megjegyzés: Az AcMPAG CEDIA MPA vizsgálatban mutatott kölcsönhatása miatt várható, hogy potenciálisan pozitív kapcsolat lesz a CEDIA MPA vizsgálat és az LC-MS/MS között.

A vizsgálattal kapcsolatos kölcsönhatás szempontjából más immunelnyomó anyagokat is teszteltek. Az alább felsorolt vegyületek a CEDIA MPA vizsgálatban a tesztelt koncentrációnál nem mutattak kölcsönhatást.

Vegyületek	Vizsgált koncentráció, µg/ml
Sirolimus	0,3
Tacrolimus	0,3
Ciklosporin	10

A vizsgálattal kapcsolatos kölcsönhatás szempontjából az MPA-mentes plazmában általánosan használt gyógyszereket teszteltek. Az alább felsorolt vegyületek a CEDIA MPA vizsgálatban a tesztelt koncentrációnál nem mutattak kölcsönhatást.

Vegyületek	Vizsgált koncentráció, µg/ml
Paracetamol	100
N-acetil-prokainamid	100
Acyclovir	100
Amikacin	100
Amfotericin B	50
Ampicillin	100
Azatioprin	100
Karbamazepin	100
Kloramfenikol	100
Cimetidin	100
Ciprofloxacin	100
Digoxin	10
Digitoxin	10
Dizopiramid	100
Eritromicin	100
Flukonazol	100
Flucytosin	100
Furoszemid	100
Gancyclovir	100
Gentamicin	100
Hidrokortizon	100
Itrakonazol	100
Kanamycin A	100
Kanamycin B	100
Ketokonazol	100
Lidokain	100
Metil-prednizolon	100
Morfin	100
Penicillin	100
Fenobarbitál	100
Fenitoin	100
Prazozin	100
Prednizolon	100
Prednizon	100
Prokainamid	100
Kinidin	100
Rifampicin	60
Nátrium-szalicilát	50
Spektinomicin	100
Sztreptomicin	100
Teofillin	100
Tobramicin	100
Triamteren	100
Valproinsav	100
Vankomicin	100
Verapamil	100

Legkisebb detektálható dózis

Az LDD definíciószerűen az a legkisebb koncentráció, amely 95%-os konfidenciával zérustól megkülönböztethető. Huszonegy MPA-negatív plazmamintát vizsgáltak a legkisebb detektálható dózisra (LDD) és az LDD értéke 0,2 µg/ml.

Funkcionális érzékenység

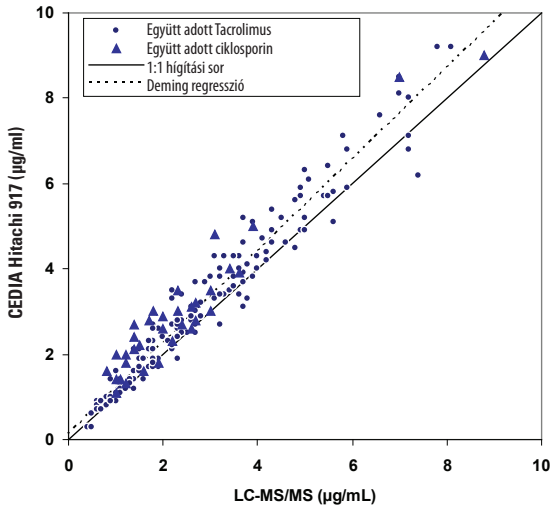
A CEDIA MPA vizsgálatra a funkcionális érzékenység, vagyis a < 20% variációs koefficienst (CV%) adó legkisebb gyógyszerkoncentráció 0,3 µg/ml. Ennél a koncentrációnál a csatolás körülbelül 0,01 µg/ml, a visszanyerés 104% és a CV értéke 17,6%.

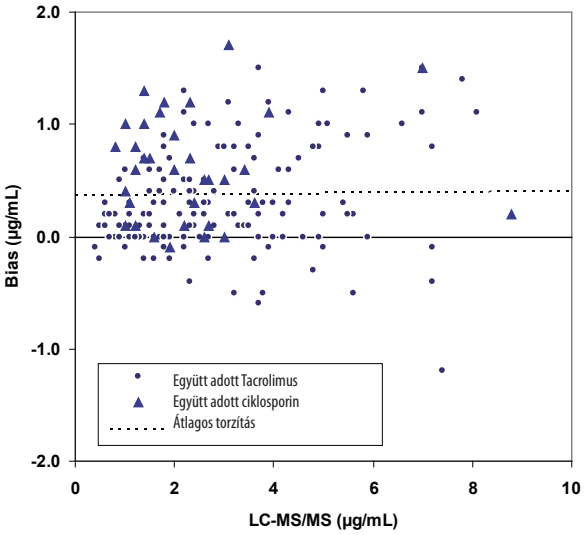
Módszerek összehasonlítása

Összesen 188, mikofenolát-mofetil vagy mikofenolát-nátrium terápiában részesült felnőtt transzplantált betegtől származó mintát vizsgáltak egy összehasonlító vizsgálatban, LC-MS/MS referencia módszerrel. Az alábbi táblázat összefoglalja és transzplantáció típusonként a külön elemzést, valamint együtt az EP Evaluator segítségével bemutatja a kutatás eredményeit. A regressziós módszer oszlopban a meredekségi és tengelymetszet-eredmények 95%-os konfidencia-intervallummal zárójelben szerepelnek.

Minta	N	Regressziós módszer		r
Plazma Szív	96	Legkisebb négyzetek módszerével kapott meredekség Legkisebb négyzetek módszerével kapott tengelymetszet	1,114 (1,061 és 1,166 között) 0,20 (0,05 és 0,36 között)	0,9743
		Deming meredekség Deming tengelymetszet	1,147 (1,094 és 1,200 között) 0,12 (-0,04 és 0,28 között)	
Plazma Vese	92	Legkisebb négyzetek módszerével kapott meredekség Legkisebb négyzetek módszerével kapott tengelymetszet	1,127 (0,974 és 1,080 között) 0,16 (-0,03 és 0,36 között)	0,9711
		Deming meredekség Deming tengelymetszet	1,060 (1,006 és 1,113 között) 0,06 (-0,13 és 0,25 között)	
Összes plazma	188	Legkisebb négyzetek módszerével kapott meredekség Legkisebb négyzetek módszerével kapott tengelymetszet	1,054 (1,015 és 1,092 között) 0,22 (0,09 és 0,34 között)	0,9698
		Deming meredekség Deming tengelymetszet	1,089 (1,051 és 1,128 között) 0,12 (-0,01 és 0,25 között)	

A betegek többsége (n=153) Tacrolimus gyógyszert kapott, amit az alábbi grafikonon körök jeleznek. A többiek (n=34) ciklosporint kaptak, amit az alábbi grafikonon háromszögek jeleznek.





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

Szakirodalmi hivatkozások

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.

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

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
USA vevőszolgálat
és műszaki támogatás:
1-800-232-3342

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

A tájékoztató frissítése itt található:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Más országokban:
Vegye fel a kapcsolatot a Thermo Fisher Scientific képviseletével.

A CEDIA a Roche Diagnostics bejegyzett védjegye.

10009470-14-HU
2024 01

Thermo SCIENTIFIC