

Test CEDIA® Mycophenolic Acid

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Do badań diagnostycznych in vitro

Rx Only

REF 100276

Przeznaczenie

Test CEDIA® Mycophenolic Acid (MPA) jest wyrobem medycznym do diagnostyki in vitro przeznaczonym do ilościowego oznaczenia kwasu mykofenolowego w ludzkim osoczu za pomocą zautomatyzowanego analizatora do badań biochemicznych jako pomoc w leczeniu pacjentów po przeszczepie nerek i serca leczonych kwasem mykofenolowym.

Informacje ogólne i objaśnienie testu

Kwas mykofenolowy (MPA), metabolizowany z prekursora leku mykofenolanu mofetylu (MMF, CellCept®) lub mykofenolanu sodu, jest powszechnie stosowany w zapobieganiu odrzutowi u pacjentów z przeszczepem nerek, serca lub wątroby¹⁻⁵. Po podaniu MMF i mykofenolanu sodu są szybko i w dużej części wchłaniane i hydrolizowane do MPA¹⁻⁴. Pod względem biochemicznym MPA jest silnym i swoistym inhibitorem dehydrogenazy inozynomonofosforanu (IMPDH), enzymu dla syntezy de novo puryny wykorzystywanego przez limfocyty B i T¹⁻⁶. Hamowanie IMPDH przez MPA tłumi proliferację komórek B i T w związku z ich zależnością od de novo syntezy puryny i tym samym wywiera działanie immunosupresyjne. W stężeniach o znaczeniu klinicznym MPA wiąże się z albuminą ludzkiej surowicy z niską stałą dysocjacji przy 13 μM^{3,7-8}. U pacjentów MPA jest dalej metabolizowana przez UDP-glukuronosylotransferazę głównie do MPAG, glukuronidu fenolowego MPA, który jest farmakologicznie nieaktywny³ i w mniejszym zakresie, do acyloglukuronidu MPA (AcMPAG). Pomiędzy pacjentami występuje duża zmienność w zakresie stosunku AcMPAG do MPA^{9,11} na którą mogą mieć wpływ inne równocześnie podawane leki, czas pobierania próbek lub inne czynniki. Tedesco-Silva et al. wykazał, że molowy stosunek AcMPAG do MPA w oparciu o AUC (pole pod krzywą) wynosi około 17-20% (26-31% wagowo)⁹ a Shipkova et al., że wynosi 10% (13-17% wagowo)¹⁰. Kuypers et al. obserwowali stosunek 5,7-15,4%¹¹. Monitorowanie stężenia MPA może być istotne dla skutecznego stosowania leku oraz dla zminimalizowania działań niepożądanych u pacjentów¹⁻⁴.

Test CEDIA MPA wykorzystuje technologię rekombinantu DNA (patent amerykański nr 4708929) do wytwarzania wyjątkowego jednorodnego systemu immunoenzymatycznego¹². Test opiera się na enzymie β-galaktozydazy, który został przygotowany metodami inżynierii genetycznej w postaci dwóch nieaktywnych fragmentów określanych jako dawca enzymu (ED) i biorca enzymu (EA). Te fragmenty samodzielnie ponownie się łączą tworząc w pełni aktywne enzymy, które w teście rozbijają substrat, powodując zmianę zabarwienia, którą można zmierzyć spektrofotometrycznie.

W trakcie testu analit znajdujący się w próbce rywalizuje z analitytem sprzężonym z ED β-galaktozydazy o ograniczoną liczbę miejsc wiązania przeciwciała. Jeśli analit jest obecny w próbce, wiąże się z przeciwciałem, pozostawiając wolny koniugat ED do tworzenia aktywnych enzymów z EA. Jeżeli w próbce nie ma analitu, przeciwciało wiąże się z analitytem skoniugowanym z ED, hamując ponowne połączenie ED z EA, i nie powstaje żaden aktywny enzym. Ilość powstałego aktywnego enzymu i wynikającej z tego zmiany absorbancji jest wprost proporcjonalna do ilości leku pierwotnie obecnego w próbce.

Odczynniki/Kalibratory

1 Bufor rozpuszczenia EA: zawiera TES [kwas N-(Tris (hydroksymetylo) metylo]-2-aminoetan-sulfonowy], przeciwciała poliklonalne przeciwko MPA, stabilizator i środek konserwujący (1 x 26 ml).

1a Odczynnik EA: zawiera 0,118 g/l EA (mikrobiologiczny), sole buforujące i środek konserwujący (liofilizowany).

2 Bufor rozpuszczenia ED: zawiera fosforan potasu, detergent i środek konserwujący (1 x 11 ml).

2a Odczynnik ED: zawiera 58 μg/l MPA skoniugowany z ED (mikrobiologiczny), 3,0 g/l chlorofenol czerwony-β-D-galaktopiranozyd, środki stabilizujące i środek konserwujący (liofilizowany).

Dodatkowe materiały dostarczone:

Dwie (2) puste butelki 20 ml.

Wymagane materiały dodatkowe (nie dostarczone):

REF	Opis zestawu
100277	Zestaw kalibratorów kwasu mykofenolowego CEDIA®
100278	Zestaw kontroli 1 kwasu mykofenolowego MAS®
100279	Zestaw kontroli 2 kwasu mykofenolowego MAS
100280	Zestaw kontroli 3 kwasu mykofenolowego MAS

Automatyczny analizator biochemiczny

⚠ Ostrzeżenia oraz środki ostrożności

Należy przestrzegać standardowych środków ostrożności obowiązujących podczas pracy ze wszystkimi odczynnikami laboratoryjnymi.

PRZESTROGA: Materiały ludzkiego pochodzenia, użyte do przygotowania kontroli MAS, badano w zakresie obecności HIV1 i 2, WZW typu B i WZW typu C metodami zatwierdzonymi przez FDA, a wyniki testów były ujemne. Niemniej, ponieważ żadna metoda badań nie może wykluczyć z całkowitą pewnością potencjalnego ryzyka zakażenia materiału należy traktować jako potencjalnie zakaźny zgodnie z normami OSHA w sprawie czynników chorobotwórczych przenoszonych z krwią. W przypadku kontaktu należy postępować zgodnie z rozporządzeniami odpowiednich władz służby zdrowia.

NIEBEZPIECZEŃSTWO: Odczynnik proszkowy zawiera ≤56% w/w albuminy surowicy bydziej (BSA) i ≤2,0% w/w azydku sodu. Odczynnik płynny zawiera ≤1,0% surowicy bydziej (BSA), ≤0,3% azydku sodu, ≤0,1% przeciwciał swoistych dla leku i ≤2,0% antysurowic (kozich).

H317 - Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H334 - Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

HU032 - W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

Unikać wdychania pyłu/mgły/par/rozpylonej cieczy. Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. Stosować rękawice ochronne/ochronę oczu/ochronę twarzy. W przypadku niedostatecznej wentylacji stosować indywidualne środki ochrony dróg oddechowych. W przypadku kontaktu ze skórą: Umyć dużą ilością wody z mydłem. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: W przypadku trudności z oddychaniem, wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: Skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z przepisami lokalnymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi.

Przygotowanie odczynników

Parametry testu zawiera karta zastosowań konkretnego urządzenia. Przygotować następujące roztwory, używając schłodzonych (2–8°C) odczynników i buforów. Zestaw należy wyjąć z lodówki bezpośrednio przed przygotowaniem roztworów roboczych.

W razie przypadkowego rozlania należy posprzątać i zutylizować materiał zgodnie ze standardową procedurą operacyjną obowiązującą w danym laboratorium oraz lokalnymi przepisami.

W przypadku otrzymania uszkodzonego opakowania należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem pomocy technicznej (dane kontaktowe znajdują się na odwrocie niniejszej ulotki dołączonej do opakowania).

Należy przygotowywać odczynniki w podanej kolejności w celu ograniczenia ewentualnego skażenia.

R2 Roztwór ED: Połączyć butelkę 2a (odczynnik ED) z butelką 2 (bufor rozpuszczenia ED) za pomocą jednego z załączonych łączników. Mieszać za pomocą delikatnego odwracania, upewniając się, że cały liofilizowany materiał z butelki 2a został przeniesiony do butelki 2. **Unikać tworzenia się piany.** Butelkę 2a i łącznik odłączyć od butelki 2 i wyrzucić. Zamknąć korkiem napełnioną butelkę 2 i pozostawić na około 5 minut w temperaturze pokojowej (15-25 °C). Delikatnie wymieszać ponownie i zapisać na etykiecie butelki datę rozpuszczenia. Umieścić butelkę bezpośrednio w komorze odczynników analizatora lub w chłodzonym miejscu przechowywania (2-8 °C) i pozostawić na 15 minut przed użyciem.

R1 Roztwór EA: Połączyć butelkę 1a (odczynnik EA) z butelką 1 (bufor rozpuszczenia EA) za pomocą jednego z załączonych łączników. Mieszać za pomocą delikatnego odwracania, upewniając się, że cały liofilizowany materiał z butelki 1a został przeniesiony do butelki 1. **Unikać tworzenia się piany.** Butelkę 1a odłączyć od łącznika i wyrzucić. Zamknąć korkiem napełnioną butelkę 1 i pozostawić na około 5 minut w temperaturze pokojowej (15-25 °C). Delikatnie wymieszać ponownie i zapisać na etykiecie butelki datę rozpuszczenia. Umieścić butelkę bezpośrednio w komorze odczynników analizatora lub w chłodzonym miejscu przechowywania (2-8 °C) i pozostawić na 15 minut przed użyciem.

Na wypadek niemożności stosowania w użytkowanym analizatorze butelki w rozmiarze butelki 1 dołączono dwie (2) mniejsze, puste butelki w kształcie trapezoidalnym. Przełać zawartość większej butelki 1 po równo do każdej z 2 mniejszych butelek.

Uwaga 1: Komponenty testu dostarczone w tym zestawie są przeznaczone do wykorzystania jako jeden integralny zestaw. Nie wolno mieszać komponentów z różnych partii zestawów testów CEDIA® MPA lub innych zestawów CEDIA.

Uwaga 2: Należy unikać skażenia krzyżowego odczynników poprzez zakładanie właściwych korków na właściwe butelki odczynników. Roztwór R2 (odczynnik ED) powinien mieć barwę pomarańczowo-żółtą. Czerwona lub fioletowo-czerwona barwa wskazuje na skażenie odczynnika i należy go usunąć.

Uwaga 3: Przed rozpoczęciem testu roztwory R1 i R2 muszą być w temperaturze komory przechowywania odczynnika analizatora. Dodatkowe informacje podano w instrukcji obsługi danego analizatora.

Uwaga 4: Aby zapewnić trwałość rozpuszczonego odczynnika EA należy chronić go przed dłuższą ciążą ekspozycją na jasne światło.

Warunki przechowywania

Przechowywać komponenty w odpowiednich temperaturach. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Terminy ważności nieotwartych komponentów testu podano na pudełku lub etykietach butelek.

R1 Roztwór: 60 dni chłodzony w analizatorze lub w temperaturze 2-8 °C

R2 Roztwór: 60 dni chłodzony w analizatorze lub w temperaturze 2-8 °C

Pobieranie i obchodzenie się z próbkami

Należy użyć próbek osocza Na₂EDTA lub K₂EDTA. Należy podjąć środki ostrożności, aby zachować integralność próbki od momentu pobrania do wykonania testu. próbki należy oznakować podając godzinę pobrania krwi i godzinę ostatniego podania leku. próbki powinny być zamknięte korkami i badane w ciągu 14 dni, jeśli są przechowywane w temperaturze 2-8 °C (kryteria akceptacji +/- 10% odzysku) lub w ciągu 5 miesięcy, jeśli przechowywane w ≤ -20 °C¹³. Unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania. Nie powodować spieniania próbek.

Wykorzystanie kodu paskowego: Na etykietach odczynników znajduje się dedykowany systemowy kod paskowy, który większość analizatorów zignoruje w przypadku nierozpoznania. Jeśli analizator zwróci kod błędu, na kodzie paskowym należy umieścić taśmę w jednolitym kolorze. Jeśli potrzebna jest pomoc, należy skontaktować się z działem pomocy technicznej.

Procedura analityczna

Kalibracja

Test CEDIA MPA przy użyciu odpowiednich kalibratorów zestawu CEDIA MPA tworzy krzywą wzorcową. Przed wykonaniem testu próbki pacjenta należy sprawdzić kalibrację testu poprzez wykonanie testu kontroli o ustalonych zakresach odzysku dla testu CEDIA MPA.

Uwaga: Karta przydzielenia wartości kalibratorów znajduje się w każdym zestawie kalibratorów CEDIA MPA. Przed zastosowaniem nowego zestawu należy sprawdzić parametry chemiczne, aby upewnić się, że stężenia kalibratorów odpowiadają wartościom wydrukowanym na karcie przypisania wartości.

Częstotliwość kalibracji

Zaleca się wykonywanie ponownej kalibracji

- W razie potrzeby po wykonaniu procedur kontroli jakości laboratorium oraz
- Po zmianie butelki odczynnika
- Po zmianie serii (zestawu) kalibratora lub odczynnika
- Po wykonaniu co miesięcznej konserwacji analizatora

Rejestrowany zakres

Zakres testu CEDIA MPA wynosi od 0,3 do 10 µg/ml.

Próbki poza zakresem

Próbki o większym stężeniu niż 10 µg/ml mogą być podawane jako stężenie > 10 µg/ml lub rozcieńczone w stosunku jedna część oryginalnej próbki i jedna część kalibratora ujemnego i ponownie zbadane. Wartość uzyskana w ponownie wykonanym teście powinna być obliczona w następujący sposób:

$$\text{Rzeczywista wartość} = 2 \times \text{rozcieńczona wartość}$$

Próbki z wynikiem poniżej czułości użytkowej testu są podawane jako < 0,3 µg/ml.

Kontrola jakości i kalibracja

Każde laboratorium powinno ustalić własną częstotliwość kontroli. Zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną każdego dnia, w którym badane są próbki pacjentów, i zawsze gdy wykonywana jest kalibracja, należy wykonać testy co najmniej dwóch stężeń (odpowiadające dolnym i górnym kryteriom decyzji odnośnie leczenia) w ramach kontroli jakości. Monitorować wartości kontroli w zakresie trendów lub zmian. W razie wykrycia trendów lub zmian lub braku odzysku w określonym zakresie należy wykonać przegląd wszystkich parametrów działania. W sprawie dodatkowej pomocy i zaleceń odnośnie odpowiedniego materiału kontroli należy skontaktować się z Działem Pomocy Technicznej firmy Microgenics. Wszystkie wymagania kontroli jakości powinny być wykonywane zgodnie z przepisami lokalnymi, regionalnymi lub państwowymi bądź warunkami akredytacji.

Uwaga: Po zamianie serii odczynnika (zestawu) należy ponownie ocenić cele kontroli i zakresy.

Ograniczenia – substancje zakłócające

Nie ustalono charakterystyki działania testu CEDIA MPA z płynami ustrojowymi innymi niż ludzkie osocze.

Kryteria akceptacji: W odniesieniu do informacji o zakłóceniach podanych poniżej, działanie testu uznano za akceptowalne (bez istotnych zakłóceń), jeśli odniesienie MPA wynosi $\pm 0,3 \mu\text{g/ml}$ przy początkowym stężeniu < $3 \mu\text{g/ml}$ lub $\pm 10\%$ początkowego stężenia > $3 \mu\text{g/ml}$.

Żółtaczka: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez nieskoniugowaną bilirubinę o stężeniu do 20 mg/dl.

Lipemia: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez trójglicerydy o stężeniu do 1600 mg/dl i cholesterol do 400 mg/dl.

Białko całkowite: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez białko całkowite o stężeniu do 10 g/dl.

Czynnik reumatoidalny: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez czynnik reumatoidalny o stężeniu do 2000 j.m./ml.

Hemoglobina: Nie stwierdzono żadnych poważnych zakłóceń powodowanych przez hemoglobinę o stężeniu do 1000 mg/dl.

Stężenie EDTA: Probki osocza pobierane do probówki ze środkiem przeciwkrzepliwym EDTA były zalecane do badań MPA¹⁵. Nie stwierdzono żadnych istotnych zakłóceń przy prawidłowej ilości próbek pobieranych do probówki VACUTAINER (fioletowy korek). Jednak jeśli pobrana stanowi mniej niż 1/3 probówki, powstałe duże stężenie EDTA spowoduje względne zawyżenie stężenia MPA.

Inne środki przeciwkrzepliwne: Chociaż osocze zawierające środek przeciwkrzepliwym EDTA jest preferowaną matrycą dla pomiaru MPA, badano heparynę pod kątem zakłóceń. Nie stwierdzono istotnych zakłóceń w związku z użyciem tego środka. W przypadku wszystkich środków przeciwkrzepliwych pobrane próbki nie mogą stanowić mniej niż 1/3 probówki dla potrzeb testu CEDIA MPA, ponieważ powoduje to zawyżenie odzysku MPA.

Przeciwciała przeciwko E. coli [β]-galaktozydazie: Częstość pacjentów z przeciwciałami przeciwko [β]-galaktozydazie E. coli jest bardzo mała. Niemniej jednak niektóre próbki zawierające takie przeciwciała mogą powodować błędnie zawyżone stężenia MPA, które mogą nie być zgodne z profilem klinicznym pacjenta. W razie podejrzenia takiej sytuacji należy skontaktować się w sprawie pomocy z Działem Pomocy Technicznej firmy Microgenics.

Ograniczenia – różnice i zmiany w teście

Różne testy immunoenzymatyczne mogą dawać zmienne wyniki w przypadku tej samej próbki w związku ze różnicowaniami specyficznymi dla testu w zakresie reaktywności krzyżowej metabolitów. Największe różnicowania mogą występować u pacjentów z upośledzonym wydalaniem (np. niewydolność nerek). W przypadku takich pacjentów oprócz użycia tego testu można wykorzystać metodę chromatograficzną swoistą dla MPA. Biorąc pod uwagę możliwość odchylenia lub rozbieżności w przypadku porównania testu CEDIA MPA i metody HPLC w zakresie wykrywania stężenia MPA w próbkach, ważne jest, aby każde laboratorium ustaliło własny zakres terapeutyczny na podstawie własnej populacji pacjentów.

Ograniczenia – reaktywność krzyżowa AcMPAG

Test ma reaktywność krzyżową wynoszącą 158% wobec AcMPAG, co może powodować pozytywne odchylenie w porównaniu do metod takich jak LC-MS/MS (chromatografia cieczowa/spektrofotometria masowa), które nie są obciążone reaktywnością krzyżową. Odchylenie względem LCMS w przypadku każdej indywidualnej próbki pacjenta wiąże się częściowo ze stężeniem AcMPAG w danej próbce.

Oczekiwane wartości

Nie ustalano w pełni optymalnego zakresu terapeutycznego MPA w osoczu. Ponadto optymalne zakresy stężenia MPA u pacjenta mogą się wahać zależnie od reaktywności krzyżowej danego testu i jego metabolitu (patrz punkt dotyczący reaktywności krzyżowej poniżej, gdzie podano reaktywności krzyżowe obserwowane w tym teście). Dlatego należy ustalić optymalne zakresy dla każdego komercyjnego testu i wartości otrzymane przy użyciu różnych metod analitycznych nie mogą być stosowane zamiennie ani nie mogą być stosowane współczynniki korekcyj. Laboratoria powinny podawać identyfikację testu na raportach wyników pacjentów w celu ułatwienia interpretacji wyników.

Optymalne zakresy zależą od typu przeszczepu i równocześnie podawanych innych leków oraz stanu klinicznego pacjenta, indywidualnych różnic w zakresie wrażliwości na działanie immunosupresyjne i toksyczne MPA, czasu od wykonania przeszczepu i szeregu innych czynników. Dlatego indywidualne wartości stężenia MPA nie mogą być używane jako jedyny wskaźnik do wprowadzenia zmian w schemacie leczenia i każdego pacjenta należy dokładnie ocenić klinicznie przed wprowadzeniem zmian w schemacie leczenia. Każda placówka powinna ustalić optymalne zakresy na podstawie określonego używanego testu i innych czynników istotnych dla populacji pacjentów.

Przykłady w piśmiennictwie dyskusji na temat obserwowanych optymalnych zakresów MPA podano w przypisach¹⁶⁻²⁰. Należy zwrócić uwagę na czynniki takie jak określone testy, specjalne charakterystyki kliniczne i czas pobierania próbek w takich przypadkach.

Swoista charakterystyka działania

Poniżej przedstawiono typowe dane działania uzyskane dla testu CEDIA MPA na analizatorze Hitachi 917¹⁰. Wyniki uzyskane w poszczególnych laboratoriach mogą się różnić od tych danych. W sprawie dodatkowych informacji dotyczących działania na określonym analizatorze należy sprawdzić protokół użycia tego analizatora lub skontaktować się z Działem Pomocy Technicznej firmy Microgenics.

Precyzja

Badania precyzji w ramach jednego testu i pomiędzy testami (odtwarzalność) przeprowadzono z użyciem próbek od pacjentów po przeszczepach przyjmujących MMF, osocza z dodanym MPA i kontroli. Zbiorka próbka 2 została przygotowana z próbek od pacjentów po przeszczepach, a próbki zbiorcze 1 i 3 są próbkami osocza nie zawierającego MPA z dodanym MPA. Wszystkie próbki badano łącznie w 21 testach przez 11 dni stosując zmodyfikowany protokół z CLSI (EP5A). Dla każdego testu wykonano kalibrację. Wyniki przedstawiono w poniższej tabeli.

Precyzja w ramach jednego testu i pomiędzy testami (odtwarzalność)

Próbka	N	Średnia	W jednym teście		Wszystkie testy	
			Odchylenie standardowe (SD)	CV (współczynnik wariancji) %	Odchylenie standardowe (SD)	CV (współczynnik wariancji) %
Zbiorka próbka pacjentów 1	126	1,0	0,06	5,6	0,08	7,7
Zbiorka próbka pacjentów 2	126	2,4	0,07	2,8	0,09	4,0
Zbiorka próbka pacjentów 3	126	6,0	0,09	1,5	0,14	2,3
Kontrola 1	126	1,1	0,06	5,5	0,10	9,5
Kontrola 2	126	2,7	0,06	2,2	0,13	4,8
Kontrola 3	126	5,9	0,12	2,0	0,20	3,3

Liniowość

W celu oceny liniowości testu próbkę osocza z dużym stężeniem rozcieńczono próbką osocza nie zawierającego MPA otrzymując serię próbek w zakresie dynamicznym testu. Każdą próbkę badano w 5 powtórzeniach i jako wyniki zmierzono przyjmowano wartość średnią. Następnie oznaczono procentowo odzysk przez podział wartości otrzymanego stężenia MPA przez wartość oczekiwanego stężenia. Oczekiwane stężenia oznaczono wykorzystując największe badane stężenie razy współczynnik rozcieńczenia.

Rozcieńczone próbki	Oczekiwana wartość (µg/ml)	Zmierzona wartość (µg/ml)	Odzysk (%)
Poziom 1	9,8	9,8	-
Poziom 2	7,4	7,4	100
Poziom 3	4,9	4,9	100
Poziom 4	3,4	3,3	97
Poziom 5	2,5	2,3	92
Poziom 6	1,0	0,9	90
Poziom 7	0,5	0,4	80
Poziom 8	0,0	0,0	-

Odzysk

W celu oceny odzysku testu dodano MPA do osocza zdrowej osoby nie zawierającego MPA i do próbek od pacjentów po przeszczepach zawierających MPA. Próbkę badano w 21 powtórzeniach w przypadku matrycy osocza od zdrowych osób i w 5 powtórzeniach w przypadku matrycy osocza pacjentów po przeszczepach. Procentowy odzysk określono przez podział otrzymanego stężenia każdej próbki przez oczekiwane stężenie dodanego MPA plus MPA wcześniej obecny w próbkach.

Osocze nie zawierające MPA

Oczekiwana wartość (µg/ml)	Zmierzona wartość (µg/ml)	Odzysk (%)
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 osocze pacjentów

Oczekiwana wartość (µg/ml)	Zmierzona wartość (µg/ml)	Odzysk (%)
Pacjent 1		
0,5	0,5	-
1,0	1,0	100
2,5	2,6	104
Pacjent 2		
2,4	2,4	-
3,4	3,3	97
6,9	6,8	99

Swoistość

Różne stężenia metabolitów glukuronidu MPA dodano do osocza zawierającego MPA w celu wykonania testu reaktywności krzyżowej. Szacunkową reaktywność krzyżową substancji obliczono za pomocą wzoru a wyniki podano w tabeli poniżej.

$$\frac{(\text{zmierzone stężenie} - \text{stężenie kontroli}) \times 100\%}{\text{zbadane stężenie powodujące reaktywność krzyżową}}$$

Reaktywność krzyżowa z metabolitami MPA

Substancja	Badane stężenie, (µg/ml)	Reaktywność krzyżowa (%)
7-O-glukuronid kwasu mykofenolowego (MPAG)	1000	0,0
Acyloglukuronid kwasu mykofenolowego (AcMPAG)	10,0	164,0
	3,0	170,0
	1,8	144,4
	0,9	177,8
	0,3	133,3
		Średnia 158

Uwaga: W związku z reaktywnością krzyżową na AcMPAG w teście CEDIA MPA przewiduje się możliwość wystąpienia dodatniego odchylenia pomiędzy testem CEDIA MPA a LC-MS/MS.

Badano inne leki immunosupresyjne w zakresie reaktywności krzyżowej na test. Substancje podane poniżej nie wykazywały reaktywności krzyżowej w badanym stężeniu w teście CEDIA MPA.

Substancje	Badane stężenie, µg/ml
Sirolimus	0,3
Takrolimus	0,3
Cyklosporyna	10

Badano powszechnie stosowane leki w osoczu nie zawierającym MPA w zakresie reaktywności krzyżowej na test. Substancje podane poniżej nie wykazywały reaktywności krzyżowej w badanym stężeniu w teście CEDIA MPA.

Substancje	Badane stężenie, µg/ml
Acetaminofen	100
N-acetyloprokainamid	100
Acyklawir	100
Amikacyna	100
Amfoteracyna B	50
Ampicylina	100
Azatiopryna	100
Karbamazepina	100
Chloramfenikol	100
Cymetydyna	100
Cyprofloksacyna	100
Digoksyna	10
Digitoksyna	10
Dizopiramid	100
Erytromycyna	100
Flukonazol	100
Flucytozyna	100
Furosemid	100
Gancyklowir	100
Gentamycyna	100
Hydrokortyzon	100
Itrakonazol	100
Kanamycyna A	100
Kanamycyna B	100
Ketokonazol	100
Lidokaina	100
Metylprednisolon	100
Morfina	100
Penicylina	100
Fenobarbital	100
Fenotyna	100
Prozasyna	100
Prednizolon	100
Prednison	100
Prokainamid	100
Chinidyna	100
Ryfampicyna	60
Salicylan sodu	50
Spektynomycyna	100
Streptomycyna	100
Teofilina	100
Tobramycyna	100
Triamteren	100
Kwas walproinowy	100
Wankomycyna	100
Werapamil	100

Najmniejsza wykrywalna dawka

LDD jest określaną jako najmniejsze stężenie, które można odróżnić od zera z 95% ufnością. Dwadzieścia jeden próbek osocza nie zawierających MPA badano w zakresie najmniejszej wykrywalnej dawki (LDD) i LDD wynosi 0,2 µg/ml.

Czułość użytkowa

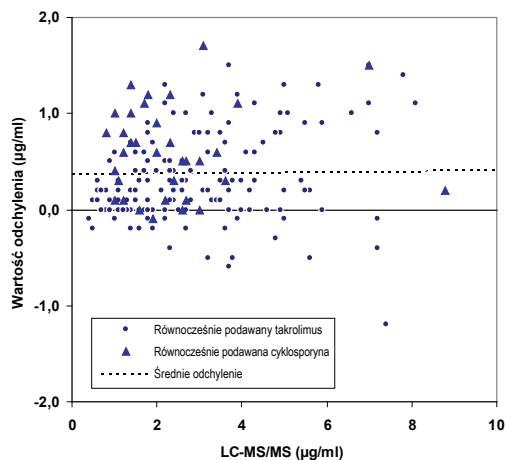
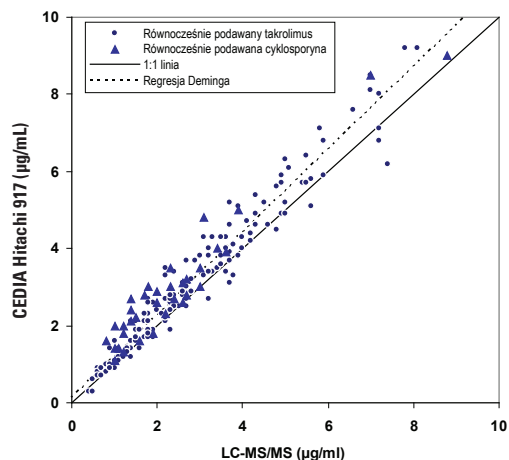
Czułość użytkowa, określona jako najmniejsze stężenie leku, które daje współczynnik zmienności (CV%) wynoszący < 20%, dla testu CEDIA MPA wynosi 0,3 µg/ml. Przy takim stężeniu istnieje około 0,01 µg/ml odchylenie, 104% odzysk i 17,6% CV.

Porównanie metod

Łącznie 188 próbek przed podaniem dawki leku od dorosłych pacjentów po przeszczepach leczonych mykofenolanem mofetylu lub mykofenolanem sodu badano w badaniu porównania metod stosując LC-MS/MS jako metodą odnośną. W poniższej tabeli podsumowano wyniki badania zawierające odrębną analizę według typu przeszczepu i łącznie przy użyciu narzędzia EP Evaluator. W kolumnie regresji metody, wyniki nachylenia i wyraz wolnego są podane z przedziałem ufności 95% w nawiasach.

Próbka	N	Metoda regresji	r	
Osocze serce	96	Nachylenie najmniejszych kwadratów Wyraz wolny najmniejszych kwadratów	1,114 (od 1,061 do 1,166) 0,20 (od -0,05 do 0,36)	0,9743
		Nachylenie Deminga Wyraz wolny Deminga	1,147 (od 1,094 do 1,200) 0,12 (od -0,04 do 0,28)	
Osocze nerka	92	Nachylenie najmniejszych kwadratów Wyraz wolny najmniejszych kwadratów	1,127 (od 0,974 do 1,080) 0,16 (od -0,03 do 0,36)	0,9711
		Nachylenie Deminga Wyraz wolny Deminga	1,060 (od 1,006 do 1,113) 0,06 (od -0,13 do 0,25)	
Osocze wszystkie narządy	188	Nachylenie najmniejszych kwadratów Wyraz wolny najmniejszych kwadratów	1,054 (od 1,015 do 1,092) 0,22 (od 0,09 do 0,34)	0,9698
		Nachylenie Deminga Wyraz wolny Deminga	1,089 (od 1,051 do 1,128) 0,12 (od -0,01 do 0,25)	

Większość pacjentów przyjmowała równocześnie takrolimus (n=153), przedstawiony na wykresie poniżej jako kółka. Inni pacjenci przyjmowali równocześnie cyklosporynę (n=34), przedstawioną na wykresie poniżej jako trójkąty.



N = 188
Średnia (Y-X) = 0,37
SD (Y-X) = 0,47
1,96 SD (standardowe odchylenie) = 0,92
Średnia + 1,96 SD = 1,29
Średnia - 1,96 SD = -0,55

Piśmiennictwo

- 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, Schmoeder 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.

Słowniczek:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 Stany Zjednoczone
Dział Pomocy Technicznej i Obsługi Klientów
na terenie Stanów Zjednoczonych:
1-800-232-3342



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



Aktualizacje ulotki są dostępne na:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Inne kraje:

Należy skontaktować się z przedstawicielem firmy Thermo Fisher Scientific.

CEDIA jest zarejestrowanym znakiem towarowym firmy Roche Diagnostics.

10009470-14-PL
2024 01

Thermo
SCIENTIFIC