

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

CSA

See shaded sections: Updated information from 2015-02 version.

Issue Date 2019-04-08

Cyclosporine A

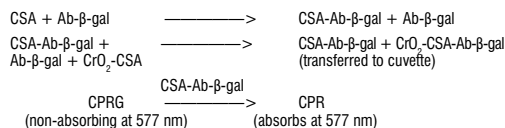
Intended Use: The CSA method is an *in vitro* diagnostic test intended to quantitatively measure cyclosporine A (CSA) in human whole blood for the Dimension® clinical chemistry system. Measurements of CSA are used as an aid in the management of heart, liver and kidney transplant patients.

Summary: Cyclosporine is a cyclic undecapeptide of fungal origin and a potent immunosuppressive agent. Inadequate cyclosporine levels may result in rejection of the transplanted organ. Toxic levels of cyclosporine are associated with many serious side effects, including nephrotoxicity and hepatotoxicity. Monitoring parent drug cyclosporine concentrations in whole blood and interpreting these values in conjunction with other laboratory data and clinical considerations is the most effective means of ensuring adequate immunosuppressant therapy for recipients of solid-organ transplants.^{1,2,3}

Cyclosporine is extensively metabolized by the liver. Circulating cyclosporine levels may be influenced by drugs that affect hepatic microsomal enzymes, particularly the cytochrome P-450 system. Substances known to inhibit these enzymes, such as cimetidine, ketoconazole and methylprednisolone, will decrease hepatic metabolism and increase cyclosporine levels. Substances that are inducers of cytochrome P-450 activity, including rifampin, phenytoin, phenobarbital, and carbamazepine, will increase hepatic metabolism and decrease cyclosporine levels.⁴

Principles of Procedure: The automated Dimension® CSA method uses an immunoassay technique in which free and CSA-bound antibody-enzyme species are separated using magnetic particles. The assay is performed using a method specific Flex® reagent cartridge. The Flex® cartridge contains a pretreatment reagent, β -galactosidase-CSA antibody conjugate, CSA immobilized on chromium dioxide particles, chlorophenol red β -D-galactopyranoside (CPRG) substrate, and diluent to hydrate the tablets.

To perform the CSA assay, a sample cup containing the whole blood sample to be analyzed and a CSA Flex® reagent cartridge are placed appropriately on the Dimension® system. The Dimension® system mixes and lyses the whole blood sample. The lysed sample is then mixed with the antibody conjugate reagent. The CSA present in the sample is bound by the CSA antibody conjugate reagent. Magnetic particles coated with cyclosporine A are added to bind free (unbound) antibody-enzyme conjugate. The reaction mixture is then separated magnetically. Following separation, the supernatant containing the CSA-antibody-enzyme complex is transferred to another cuvette and mixed with the substrate. β -galactosidase catalyzes the hydrolysis of CPRG (chlorophenol red β -D-galactopyranoside) to produce CPR (chlorophenol red) that absorbs light maximally at 577 nm. The change in absorbance at 577 nm due to the formation of CPR is directly proportional to the amount of CSA in the patient's sample and is measured using a bichromatic (577, 700 nm) rate technique.



Reagents

Wells ^a	Form	Ingredient	Concentration ^b	Source
1,2	Liquid	Ab- β -galactosidase	c	Mouse, monoclonal
3,4	Tablet ^d	CSA-CrO ₂	3.4 mg/tab	
5,6	Tablet ^d	CPRG	9.3 mg/tab	
7	Liquid	Substrate Diluent		
8	Liquid	Pretreatment reagent		

a. Wells are numbered consecutively from the wide end of the cartridge.

b. Nominal value per tablet at manufacture.

c. Antibody concentration and conjugate activity varies from lot to lot.

d. Tablets contain protease-free BSA, bovine gamma globulin, 30% BSA, excipients, buffers and stabilizers.

Risk and Safety:



H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Warning!

May cause an allergic skin reaction.

Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace. IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Dispose of contents and container in accordance with all local, regional, and national regulations.

Contains: 5-chloro-2-methyl-3(2H)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2H)-isothiazolone; Chromium oxide.

Safety data sheets (MSDS/SDS) available on www.siemens.com/diagnostics

Precautions: Used cuvettes contain human body fluids; handle with appropriate care to avoid skin contact and ingestion.

For *in vitro* diagnostic use

Reagent Preparation: Hydrating, diluting, and mixing are automatically performed by the instrument.

Store at: 2 – 8 °C

Expiration: Refer to carton for expiration date of individual unopened reagent cartridges. Sealed or unhydrated cartridge wells on the instrument are stable for 30 days.

Open Well Stability: 3 days for wells 1 – 6
10 days for wells 7 – 8

Specimen Collection and Handling: Recommended specimen types: Use only whole blood in EDTA collected by normal procedures.⁵

Blood can be collected using recommended procedures for collection of diagnostic blood specimens by venipuncture.⁵

Follow the instructions provided with your specimen collection device for use and processing.⁶

A trough sample is recommended for measurement of cyclosporine. The time when blood is drawn relative to the last dose of cyclosporine should be noted to ensure proper interpretation of results.

Mix freshly collected, refrigerated and thawed samples thoroughly prior to use to allow equilibration and uniform distribution of cyclosporine in whole blood.⁷

Specimens that contain particulate matter and clots should not be used.

Whole blood specimens are stable for 7 days at ambient temperatures.⁸ Whole blood specimens may be refrigerated at 2 – 8 °C for up to 7 days. For longer periods of storage, samples should be frozen at -20 °C.⁹

Avoid repeated freezing and thawing.

Procedure

Materials Provided

CSA Flex® reagent cartridge, Cat. No. DF89A

Materials Required But Not Provided

Sample Probe Cleaner, Cat. No. RD703

Reagent Probe Cleaner, Cat. No. RD702

CSA Calibrator, Cat. No. DC89

Reaction Vessels (required for HM only), Cat. No. RXV1A

Quality Control Materials

Test Steps

Sampling, reagent delivery, mixing, separation, processing and printing of results are automatically performed by the Dimension® System with the heterogeneous immunoassay module.

- Mix all calibrators, controls and samples gently but thoroughly just before use. Mix by hand or on an inverter or rocker. **DO NOT VORTEX.**

- Transfer **200 μ L** to a sample cup for processing on the Dimension® system. The specimen must be sampled within 30 minutes of being placed on the sample wheel.

- Do not process primary tubes directly on the Dimension® clinical chemistry system for this method.**

For details of this processing, refer to your Dimension® Operator's Guide.

Test Conditions

Reaction Vessel

Pretreatment Reagent	70 μ L
Sample Size	5 μ L
Antibody- β -galactosidase	50 μ L
CSA - CrO ₂	50 μ L
Incubation Temperature	42 °C*

*Dimension® EXL™ with LOCi® Module: 37°C

Reaction Cuvette

Transfer Volume	54 μ L
CPRG Reagent Volume	150 μ L
Diluent Volume	191 μ L
Temperature	37.0 °C
Wavelength	577 and 700 nm
Type of Measurement	Bichromatic rate

Calibration

Assay Range	25 – 500 ng/mL [20.8 – 416.3 nmol/L] ^e										
Calibration Material	CSA Calibrator, Cat. No. DC89										
Calibration Scheme	5 levels, Four @ level 1, three @ level 2, two @ level 3, and three @ levels 4 and 5.										
Units	ng/mL [nmol/L] (ng/mL x 0.832) = [nmol/L]										
Typical Calibration Levels	0, 100, 200, 350, 500 ng/mL [0.0, 83.2, 166.4, 291.2, 416.0 nmol/L]										
Calibration Frequency	Every 30 days for any one lot										
A new calibration is required	- For each new lot of Flex® reagent cartridges - After major maintenance or service, if indicated by quality control results - As indicated in laboratory quality control procedures - When required by government regulations										
Assigned Coefficients	<table> <tr> <td>C₀</td><td>41.9</td></tr> <tr> <td>C₁</td><td>746</td></tr> <tr> <td>C₂</td><td>-2.25</td></tr> <tr> <td>C₃</td><td>562</td></tr> <tr> <td>C₄</td><td>0.5</td></tr> </table>	C ₀	41.9	C ₁	746	C ₂	-2.25	C ₃	562	C ₄	0.5
C ₀	41.9										
C ₁	746										
C ₂	-2.25										
C ₃	562										
C ₄	0.5										

e. Système International d'Unités [SI Units] are in brackets.

Quality Control

At least once each day of use, analyze two levels of a Quality Control (QC) material with known cyclosporine concentration. Follow your laboratory internal QC procedures if the results obtained are outside acceptable limits.

Results: The instrument automatically calculates and prints the concentration of CSA in ng/mL [nmol/L] using the calculation scheme illustrated in your Dimension® Operator's Guide.

Results of this test should always be interpreted in conjunction with the patient's medical history, clinical presentation and other findings.

Analytical Measurement Range (AMR): 25 – 500 ng/mL [20.8 – 416.3 nmol/L]

This is the range of analyte values that can be measured directly from the specimen without any dilution or pretreatment that is not part of the usual analytical process and is equivalent to the assay range.

Samples with results in excess of 500 ng/mL [416.3 nmol/L] are reported as "Above Assay Range" and should be run on CSAE method (DF108), which provides quantitative values for CSA from 350 – 2000 ng/mL [291.7 – 1666.7], or repeated on dilution.

Manual Dilution: Dilute 1:4 [1 part of whole blood and 3 parts of Dimension® Level 1 (0 ng/mL), CSA Calibrator] to obtain an estimate of the cyclosporine concentration. Enter dilution factor (4). Reassay. Resulting readout is corrected for dilution.

If the CSA result of the 1:4 manually diluted sample is still flagged "Above Assay Range or Assay Range", the CSA result should be reported as "greater than 2000 ng/mL [1664.0 nmol/L]."

Autodilution (AD): Not available for whole blood methods.

Samples with results less than 25 ng/mL [20.8 nmol/L] should be reported as "less than 25 ng/mL [20.8 nmol/L]."

Limitations of Procedure

Patient samples may contain heterophilic antibodies that could react in immunoassays to give falsely elevated or depressed results. This assay has been designed to minimize interference from heterophilic antibodies. Nevertheless, complete elimination of this interference from all patient specimens cannot be guaranteed. A test result that is inconsistent with the clinical picture and patient history should be interpreted with caution.^{10,11}

The assay has also been designed to minimize interference from antibodies to β-galactosidase. These antibodies can be encountered in samples as a consequence of bacterial infection and may produce falsely elevated results which may not be consistent with clinical evaluation. In very rare instances, immunoassays may produce falsely elevated or decreased results due to other patient-specific interferents.¹²

For patients with impaired liver function and patients receiving other drugs which may induce or inhibit microsomal enzyme activity, the routine use of the Dimension® Cyclosporine Whole Blood Assay analysis may be supported by HPLC data to assess possible changes in biotransformation and elimination.

The instrument reporting system contains error messages to warn the operator of specific malfunctions. Any report slip containing such error messages should be held for follow-up. Refer to your Dimension® Operator's Guide.

A system malfunction may exist if the following 5-test precision is observed:

Concentration	SD
200 ng/mL [166.4 nmol/L]	> 20.4 ng/mL [17.0 nmol/L]
350 ng/mL [291.2 nmol/L]	> 35.2 ng/mL [29.3 nmol/L]

NOTE: To do a 5-test precision check, pipette 300 µL of CSA Calibrators Level 3 and 4 in separate sample cups. Request five replicates of CSA measurements for each calibrator level. Evaluate the SD obtained for each level using the above guidelines.

Expected Values

CAUTION: There is no universally established therapeutic range for cyclosporine in whole blood. Values obtained with different assay methods cannot be used interchangeably due to differences in assay methods and reagent specificity.

Individual cyclosporine values cannot be used as the sole indicator for making changes in the treatment regimen. Each patient should be thoroughly evaluated clinically before treatment adjustments are made and each user must establish his or her own ranges based on these clinical experiences. Because of varying patterns of cross-reactivity with metabolites, the consistent use of one assay for individual patients is recommended. Conversion factors obtained from assay method comparisons should not be used to predict values for individual patients.

The complexity of the clinical state, individual differences in sensitivity to immunosuppressive and nephrotoxic effects of cyclosporine, co-administration of other immunosuppressants, type of transplant, time post-transplant, and a number of other factors contribute to different requirements for optimal blood levels of cyclosporine.¹³

Specific Performance Characteristics¹

The following data represent typical performance for the Dimension® system.

Precision^{a,b}

Material	Standard Deviation (% CV)		
	Mean ng/mL [nmol/L]	Within-Run ng/mL [nmol/L]	Total ng/mL [nmol/L]
QC Level 1*	65 [54.1]	3.4 [2.8] (5.2)	5.3 [4.4] (8.2)
QC Level 2	151 [125.6]	6.5 [5.4] (4.3)	8.1 [6.7] (5.4)
QC Level 3	400 [332.8]	17.3 [14.4] (4.3)	19.0 [15.8] (4.8)
Whole Blood Pool-1**	83 [69.1]	4.9 [4.1] (5.9)	6.0 [5.0] (7.3)
Whole Blood Pool-2	132 [109.8]	5.5 [4.6] (4.2)	8.1 [6.7] (6.2)
Whole Blood Pool-3	219 [182.2]	7.7 [6.4] (3.5)	9.5 [7.9] (4.3)
Whole Blood Pool-4	369 [307.0]	13.5 [11.2] (3.6)	14.4 [12.0] (3.9)

*More Diagnostics Tac/CsA Immunosuppressant Controls, More Diagnostics Inc, Los Osos, CA 93402.

**Whole Blood Pool (1,2,3) prepared from EDTA whole blood and gravimetrically supplemented with cyclosporine at above levels.

f. All specific performance characteristics tests were run after normal recommended equipment quality control checks were performed (refer to your Dimension® Operator's Guide).

g. Reproducibility testing was done in accordance with the NCCLS Guideline for User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices (EP5-A2, 2004).

h. Specimens at each level were analyzed in duplicate, once a day, for 20 days. The within-run and total standard deviations were calculated by analysis of variance method.

Method Comparison Regression Statistics¹

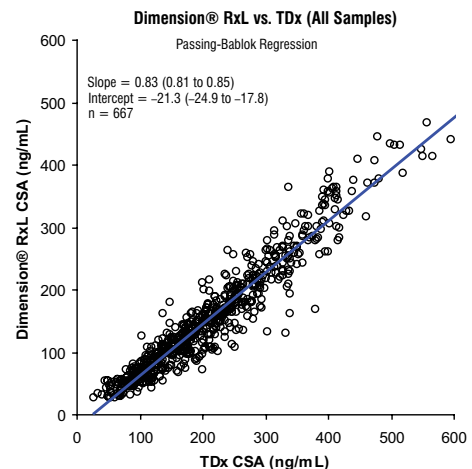
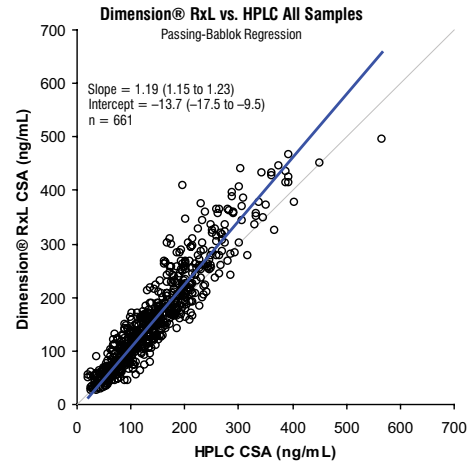
Comparative Method	Slope	Intercept ng/mL [nmol/L]	Correlation Coefficient	n ¹
Abbott TDx®				
All	0.83	-21.3 [-17.7]	0.957	667
Heart	0.83	-20.9 [-17.4]	0.927	111
Liver	0.82	-26.3 [-21.9]	0.952	201
Kidney	0.83	-18.8 [-15.6]	0.966	279
HPLC				
All	1.19	-13.7 [-11.4]	0.935	661
Heart	1.28	-16.0 [-13.3]	0.893	111
Liver	1.18	-13.3 [-11.1]	0.961	201
Kidney	1.13	-8.9 [-7.4]	0.920	273

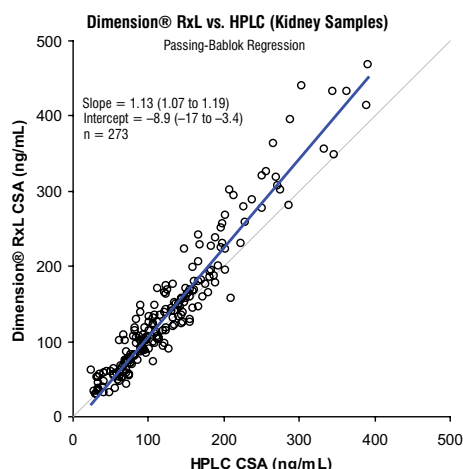
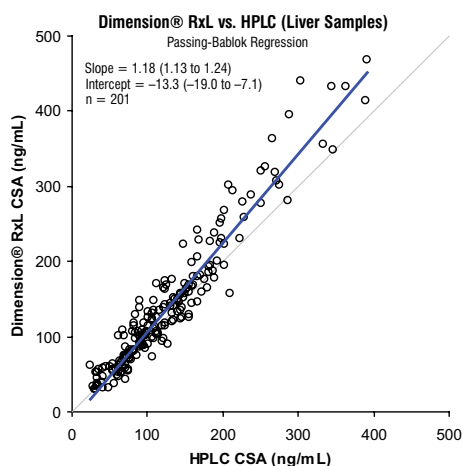
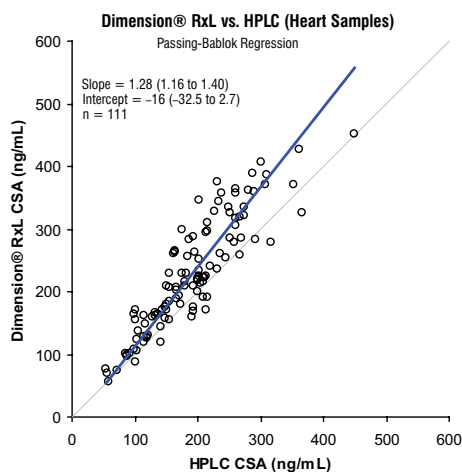
i. Passing-Bablok¹⁴ method was used to fit the linear regression line. The model equation for regression statistics is: Result of Dimension® system = (Slope x comparative method result) + Intercept.

Note: Regression of Dimension® CSA method (y) vs. HPLC (x) was also performed using the ordinary least squares regression method. The regression error of estimate (sy/x) was 32.3 ng/mL [26.9 nmol/L] (ALL); 40.5 ng/mL [33.7 nmol/L] (HEART); 24.7 ng/mL [20.6 nmol/L] (LIVER); 25.4 ng/mL [21.1 nmol/L] (Kidney).

j. The range of CSA values in the correlation study was 27.3 to 494.3 ng/mL [22.7 – 411.6 nmol/L]. The number of individual patients (adults, 23 to 76 years old), represented in the above method comparisons for each organ transplant group is: 36 (Heart); 44 (Liver); 68 (Kidney); 32 (Bone Marrow and Lung).

TDx® is the registered trademark of Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL 60064.





Specificity

Non-Interfering Substances

The following substances do not interfere with the CSA method when present in whole blood at the concentrations indicated. Inaccuracies (biases) due to these substances are less than 10% at a CSA level of 200 ng/mL [166.5 nmol/L]:

Substance	Test Concentration	SI Units
Acetaminophen	20 mg/dL	1322 µmol/L
Amikacin	15 mg/dL	256 µmol/L
Amikacin Sulfate	100 µg/mL	127.9 µmol/L
Amphotericin B	100 µg/mL	108.2 µmol/L
Ampicillin	5 mg/dL	143 µmol/L
Apresoline	100 µg/mL	508.7 µmol/L
Ascorbic Acid	3 mg/dL	170.3 µmol/L
Azathioprine	100 µg/mL	360.6 µmol/L
Bilirubin	60 mg/dL	1026 µmol/L
Caffeine	10 mg/dL	515 µmol/L
Carbamazepine	12 mg/dL	508 µmol/L
Cephalexin	100 µg/mL	208.9 µmol/L
Chloramphenicol	25 mg/dL	774 µmol/L
Chlorpromazine	5 mg/dL	157 µmol/L
Cholesterol	500 mg/dL	12.9 mmol/L
Cimetidine	10 mg/dL	396 µmol/L
Creatinine	30 mg/dL	2652 µmol/L
Dextran 75	2500 mg/dL	333 µmol/L
Diazepam	2 mg/dL	70 µmol/L
Digoxin	5 ng/mL	6.4 nmol/L
Digitoxin	100 µg/mL	130.7 µmol/L
Dipyridamole	100 µg/mL	198.2 µmol/L
Disopyramide	100 µg/mL	294.6 µmol/L
Erythromycin	20 mg/dL	273 µmol/L
Ethanol	350 mg/dL	76 mmol/L
Ethosuximide	30 mg/dL	2125 µmol/L
FK506 (Tacrolimus)	0.1 µg/mL	0.12 µmol/L
Furosemide	2 mg/dL	61 µmol/L
Gentamicin	12 mg/dL	251 µmol/L
Hemoglobin	1000 mg/dL	0.62 mmol/L (monomer)
Heparin	8000 U/L	8000 U/L
Ibuprofen	40 mg/dL	1939 µmol/L
Immunoglobulin G	6 g/dL	60 g/L
Kanamycin A	100 µg/mL	171.6 µmol/L
Kanamycin sulfate B	100 µg/mL	206.8 µmol/L
Ketoconazole	100 µg/mL	188.2 µmol/L
Lidocaine	6 mg/dL	256 µmol/L
Lincomycin	100 µg/mL	225.7 µmol/L
Lipemia	1500 mg/dL	16.95 mmol/L (triglyceride)
Lithium	3.5 mg/dL	5.07 mmol/L (lithium chloride)
Methotrexate	100 µg/mL	220 µmol/L
Methylprednisolone	100 µg/mL	267 µmol/L
Mycophenolic Acid	100 µg/mL	312.1 µmol/L
N-acetyl procainamide	100 µg/mL	360.5 µmol/L
Neomycin sulfate	100 µg/mL	110 µmol/L
Nicotine	2 mg/dL	123 µmol/L
Oxytocin	100 µg/mL	99.3 µmol/L
Penicillin G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	10 mg/dL	442 µmol/L
Phenobarbital	15 mg/dL	646 µmol/L
Phenytoin	10 mg/dL	396 µmol/L
Prazosin	100 µg/mL	238.2 µmol/L
Prednisolone	100 µg/mL	277.5 µmol/L
Prednisone	100 µg/mL	279 µmol/L
Primidone	10 mg/dL	458 µmol/L
Procainamide	100 µg/mL	367.9 µmol/L
Propoxyphene	0.4 mg/dL	12 µmol/L
Propranolol	100 µg/mL	338 µmol/L
Protein (Albumin)	6 g/dL	60 g/L
Protein (Total)	4 g/dL	40 g/L
Protein (Total)	12 g/dL	120 g/L
Quinidine	100 µg/mL	308.3 µmol/L
Rapamycin	0.1 µg/mL	0.11 µmol/L
Rheumatoid Factor	500 IU/mL	500 IU/mL
Rifampin	100 µg/mL	121.5 µmol/L
Salicylic Acid	50 mg/dL	3.62 mmol/L
Spectinomycin	100 µg/mL	246.7 µmol/L
Streptomycin	100 µg/mL	68.6 µmol/L
Theophylline	25 mg/dL	1388 µmol/L
Tobramycin	100 µg/mL	213.9 µmol/L
Tocainide	100 µg/mL	438.6 µmol/L
Triamterene	100 µg/mL	394.8 µmol/L
Urea	500 mg/dL	83.3 mmol/L
Uric Acid	20 mg/dL	1.2 mmol/L
Valproic Acid	50 mg/dL	3467 µmol/L
Vancomycin	100 µg/mL	67.3 µmol/L
Verapamil	100 µg/mL	203.6 µmol/L

Cross-reactivity

Six major metabolites were evaluated for cross-reactivity in the presence of 200 ng/mL [166.5 nmol/L] cyclosporine. The percent cross-reactivity was calculated as follows:

% cross-reactivity =
$$\frac{\text{measured CSA} - \text{control CSA (200 ng/mL [166.5 nmol/L])}}{\text{metabolite added}} \times 100$$

Cyclosporine Metabolite	Metabolite Level Tested ng/mL [nmol/L]	Cross-Reactivity%
AM1 (M17)	1000 [821]	1.8
AM1c (M18)	1000 [821]	1.1
AM1c9 (M26)	1000 [810]	1.7
AM4N (M21)	1000 [842]	6.0
AM9 (M1)	1000 [821]	2.1
AM19 (M8)	1000 [810]	1.8

Recovery

Known amounts of CSA were added to human whole blood samples with concentrations of 100, 200, 300 and 400 ng/mL [83.3, 166.5, 249.8, 333.0 nmol/L]. CSA concentrations on these samples were then measured and the calculated percent recovery ranged from 93.0% to 101.4% with a mean recovery of 96.6%.

Percent Recovery =
$$\frac{\text{Value obtained} - \text{Baseline}}{\text{Amount Added}} \times 100$$

Linearity

The analysis of cyclosporine on the Dimension® RxL by the Dimension® CSA method shows a deviation from the estimated line of less than 10 ng/mL [8.3 nmol/L] with 95% confidence at the analytical concentration of 200 ng/mL [166.5 nmol/L]. The lower limit of the linearity claim is 25 ng/mL [20.8 nmol/L].

Limit of Detection: 25 ng/mL [20.8 nmol/L]

The limit of detection for CSA is 25 ng/mL, determined consistent with CLSI guideline EP-17A and with proportions of false positives (α) less than 5% and false negatives (β) less than 5%; based on 120 determinations, with 5 blank samples and 5 low level samples.¹⁵

Functional Sensitivity: 30 ng/mL [25.0 nmol/L]

The Functional Sensitivity of CSA was determined by assaying multiple specimens (10 – 70 ng/mL) and assessing the total precision for these specimens. The study was conducted over a six week period, with 12 days of testing, 1 run per day with samples run in singlet on two instruments with two reagent lots. The testing included data from two calibrations. The inter-assay coefficient of variation was plotted by nonlinear regression versus concentration. The functional sensitivity (at 20% CV) was 30 ng/mL [25.0 nmol/L].

Symbols Key: See adjacent panel.

Bibliography: See adjacent panel.

Dimension®, Flex®, EXL™ and LOCI® are trademarks of Siemens Healthcare Diagnostics.

©2009 Siemens Healthcare Diagnostics
All rights reserved.

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

CSA

Siehe schraffierte Abschnitte: Aktualisierte Informationen gegenüber der Version 2015-02.

Ausgabedatum 2019-04-08

Cyclosporin A

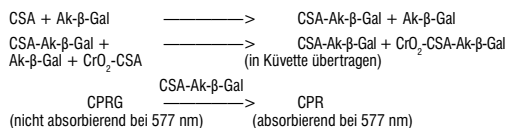
Verwendungszweck: Die CSA-Methode ist ein *In-vitro*-Diagnostikum zur quantitativen Messung von Cyclosporin A (CSA) in menschlichem Vollblut für das klinisch-chemische Analysensystem Dimension®. Durch die Messung von CSA kann die Behandlung von Herz-, Leber- und Nierentransplantationspatienten optimiert werden.

Zusammenfassung: Cyclosporin ist ein zyklisches Peptid aus elf Aminosäuren fungiden Ursprungs sowie ein leistungsstarkes Immunsuppressivum. Erhöhte oder zu niedrige Cyclosporinkonzentrationen können zu einer Abstoßung des transplantierten Organs führen. Toxische Cyclosporinkonzentrationen verursachen verschiedene schwere Nebenwirkungen, darunter Nephrotoxizität und Hepatotoxizität. Die Überwachung der Vorgängerkonzentrationen von Cyclosporin in Vollblut und die Interpretation dieser Werte unter Berücksichtigung anderer Laborinformationen und klinischer Faktoren sind das effektivste Mittel, um eine angemessene Immunsuppressionstherapie für Transplantatempfänger von Gewebeorganen sicherzustellen.^{1,2,3}

Cyclosporin wird weitgehend von der Leber metabolisiert. Die Konzentration an vorhandenem Cyclosporin kann von Wirkstoffen beeinflusst werden, die sich auf hepatische, mikrosomale Enzyme auswirken, vor allem auf das Cytochrom-P450-System. Substanzen, die diese Enzyme hemmen, z. B. Cimetidin, Ketoconazol und Methylprednisolon, verlangsamen den hepatischen Metabolismus und erhöhen die Cyclosporinkonzentrationen. Substanzen, die eine Cytochrom-P450-Aktivität auslösen, z. B. Rifampin, Phenytoin, Phenobarbital und Carbamazepin beschleunigen den hepatischen Metabolismus und senken die Cyclosporinkonzentrationen.⁴

Grundlagen des Verfahrens: Die automatisierte Dimension®-CSA-Methode basiert auf einem Immunoassay, bei dem freie und CSA-gebundene Antikörperkonzentrationen mithilfe magnetischer Partikel getrennt werden. Der Test wird mit einer Methoden-spezifischen Flex®-Reagenzkassette durchgeführt. Die Flex®-Kassette enthält ein Vorbereitungsreagenz, β -Galactosidase-CSA-Antikörperkonjugat, CSA immobilisiert auf Chromoxidpartikeln, Chlorphenol-Rot- β -D-Galactopyranosid-Substrat (CPRG) und ein Verdünnungsmittel für die Hydrierung der Tabletten.

Zum Durchführen des CSA-Tests werden ein Proben-Cup mit der zu analysierenden Vollblutprobe und eine CSA Flex®-Reagenzkassette ordnungsgemäß in das Dimension®-System eingesetzt. Das Dimension®-System mischt und lysiert die Vollblutprobe. Die lysierte Probe wird anschließend mit dem Antikörperkonjugat-Reagenz gemischt. Das in der Probe vorliegende CSA wird vom CSA-Antikörperkonjugat-Reagenz gebunden. Magnetische, mit Cyclosporin A beschichtete Partikel werden hinzugefügt, um das freie (ungebundene) Antikörperkonzentration zu binden. Die Reaktionsmischung wird dann magnetisch getrennt. Nach der Trennung wird der Überstand, der den CSA-Antikörperkonzentration-Komplex enthält, in eine andere Küvette aufgenommen und mit dem Substrat gemischt. β -Galactosidase katalysiert die Hydrolyse von CPRG (Chlorphenol-Rot- β -D-Galactopyranosid), wobei CPR (Chlorphenol-Rot) gebildet wird, das Licht maximal bei 577 nm absorbiert. Die Extinktionsänderung bei 577 nm durch die Bildung von CPR ist direkt proportional zur CSA-Konzentration in der Patientenprobe und wird kinetisch bichromatisch (bei 577 und 700 nm) gemessen.



Reagenzien

Zellen ^a	Form	Inhaltsstoff	Konzentration ^b	Ursprung
1,2	Flüssig	Ak- β -Galactosidase	c	Maus, monoklonal
3,4	Tablette ^d	CSA-CrO ₂	3.4 mg/Tab	
5,6	Tablette ^d	CPRG	9.3 mg/Tab	
7	Flüssig	Substratverdünnungsmittel		
8	Flüssig	Vorbereitungsreagenz		

- a. Die Zellen sind vom breiten Ende der Kassette aus durchgehend nummeriert.
b. Nennwert pro Tablette bei Herstellung.
c. Antikörperkonzentration und Konjugataktivität schwankt von Charge zu Charge.
d. Tabletten enthalten Protease-freies BSA, Rinder-Gammaglobulin, 30 % BSA, Füllstoffe, Puffer und Stabilisatoren.

Gefahrenhinweise und Sicherheitssätze:

H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Warnung!
Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Inhalt und Behälter sind in Übereinstimmung mit den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Enthält: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone; Chromoxid.

Vorsichtsmaßnahmen: Gebrauchte Küvetten enthalten menschliche Körperflüssigkeiten; mit entsprechender Vorsicht handhaben und Hautkontakt oder Verschlucken vermeiden.

In-vitro-Diagnostikum

Reagenz Vorbereitung: Auflösung, Verdünnung und Mischung werden vom Gerät automatisch durchgeführt.

Aufbewahrung bei: 2 – 8 °C

Verfalldatum: Verfalldatum einzelner ungeöffneter Reagenzkassetten siehe Umkarton. Verschluss- oder unaufgelöste Zellen sind im Gerät 30 Tage lang stabil.

Stabilität geöffneter Zellen: 3 Tage für Zellen 1 – 6
10 Tage für Zellen 7 – 8

Probenentnahme und -handhabung: Empfohlene Probenarten: Ausschließlich mit normalen Verfahren entnommenes Vollblut in EDTA.⁵

Blut kann mit empfohlenen Verfahren zur Entnahme diagnostischer Blutproben durch Venenpunktion gewonnen werden.⁵

Anweisungen zur Verwendung der Probenentnahmeverrichtung und zur Probenverarbeitung beachten.⁶

Zur Messung von Cyclosporin wird eine Probe mit der niedrigsten Wirkstoffkonzentration (Talspiegel) empfohlen. Um eine ordnungsgemäße Interpretation der Ergebnisse sicherzustellen, muss der Zeitpunkt der Blutentnahme unter Berücksichtigung der letzten Cyclosporineinnahme vermerkt werden.

Mischen Sie frisch entnommene, gekühlte und aufgetaute Proben vor dem Gebrauch gründlich, um eine Äquibrierung und gleichmäßige Verteilung von Cyclosporin im Vollblut zu ermöglichen.⁷

Proben, die Partikel und Gerinnsel aufweisen, sollten nicht verwendet werden.

Vollblutproben sind bei Umgebungstemperatur 7 Tage stabil.⁸ Vollblutproben können bei 2 – 8 °C bis zu 7 Tage gekühlt gelagert werden. Proben können für längere Zeiträume bei -20 °C eingefroren werden.⁹

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden.

Verfahren

Mitgelieferte Materialien

CSA Flex®-Reagenzkassette, Art.-Nr. DF89A

Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Probennehmerreiniger, Art.-Nr. RD703
Reagenzprobennehmerreiniger, Art.-Nr. RD702
CSA-Kalibrator, Art.-Nr. DC89
Reaktionsgefäße (nur für HM erforderlich), Art.-Nr. RXV1A
Qualitätskontrollmaterialien

Testschritte

Probenentnahme, Reagenzzugabe, Mischung, Trennung und Bearbeitung sowie Ergebnisausdruck werden vom Dimension®-System mit dem heterogenen Immunoassay-Modul automatisch durchgeführt.

- Alle Kalibratoren, Kontrollmaterialien und Proben vorsichtig, jedoch sorgfältig unmittelbar vor Gebrauch mischen. Manuell oder auf Gerät zum Umdrehen oder Kippen mischen. **NICHT VORTEXEN.**
- 200 µl** zur Analyse auf dem Dimension®-System in einen Proben-Cup übertragen. Die Probe muss innerhalb von 30 Minuten nach dem Einsetzen in das Probenrad analysiert werden.
- Primärröhrchen bei dieser Methode nicht direkt mit dem Dimension®-System verarbeiten.**

Weitere Informationen entnehmen Sie bitte dem Dimension®-Bedienungshandbuch.

Testbedingungen

Reaktionsgefäß

Vorbereitungsreagenz	70 µl
Probenvolumen	5 µl
Antikörper- β -Galactosidase	50 µl
CSA - CrO ₂	50 µl
Inkubationstemperatur	42 °C*

*Dimension® EXL™ mit LOC1®-Modul: 37 °C

Reaktionsküvette

Übertragungsvolumen	54 µl
CPRG-Reagenzsvolumen	150 µl
Verdünnungsmittelvolumen	191 µl
Temperatur	37.0 °C
Wellenlänge	577 und 700 nm
Messverfahren	Bichromatische kinetik

Kalibration	
Messbereich	25 – 500 ng/ml [20.8 – 416.3 nmol/l]*
Kalibrationsmaterial	CSA-Kalibrator, Art.-Nr. DC89
Kalibrierschema	5 Level, 4 bei Level 1, 3 bei Level 2, 2 bei Level 3 und 3 bei Level 4 und 5.
Einheiten	ng/ml [nmol/l] (ng/ml x 0.832) = [nmol/l]
Typische Kalibrator-Level	0, 100, 200, 350, 500 ng/ml [0.0, 83.2, 166.4, 291.2, 416.0 nmol/l]
Kalibrationshäufigkeit	Alle 30 Tage mit derselben Charge
Eine neue Kalibration ist erforderlich	Für jede neue Charge von Flex®-Reagenzkassetten Nach größeren Wartungs- oder Servicemaßnahmen, falls die Ergebnisse der Qualitätskontrolle dies nahelegen Nach Maßgabe der Qualitätskontrollverfahren des Labors Nach Maßgabe behördlicher Vorschriften
Ursprungs-Koeffizienten	C ₀ 41.9 C ₁ 746 C ₂ -2.25 C ₃ 562 C ₄ 0.5

e. SI-Einheiten sind in Klammern angegeben.

Qualitätskontrolle

In der Praxis sollten mindestens einmal täglich zwei Konzentrationsstufen eines Qualitätskontrollmaterials (QK-Material) mit bekanntem Cyclosporinegehalt analysiert werden. Bei Ergebnissen außerhalb der akzeptablen Grenzwerte nach laborinternen QK-Vorschriften vorgehen.

Ergebnisse: Das Gerät berechnet automatisch die Konzentration von CSA in ng/ml [nmol/l] nach dem Berechnungsschema, das im Dimension®-Bedienungsbandbuch dargestellt ist, und druckt sie aus.

Ergebnisse dieses Tests sollten stets in Verbindung mit der Vorgeschichte des Patienten, dem klinischen Bild und anderen Untersuchungsergebnissen interpretiert werden.

Analytischer Messbereich (AMR): 25 – 500 ng/ml [20.8 – 416.3 nmol/l]

Dies ist der Bereich von Analysewerten, der ohne vorherige Verdünnung oder Vorbehandlung, die nicht Teil des üblichen Analysevorgangs ist, in der Probe direkt ermittelt werden kann, und entspricht dem Testbereich.

Für Proben mit Ergebnissen über 500 ng/ml [416.3 nmol/l] wird „Above Assay Range“ (Oberhalb Testbereich) ausgegeben. Sie sollten mit der CSAE-Methode (DF108) analysiert werden, bei der quantitative Werte für CSA von 350 – 2000 ng/ml [291.7 – 1666.7] ausgegeben werden, oder nach Verdünnung erneut analysiert werden.

Manuelle Verdünnung: Verdünnen Sie die Probe im Verhältnis 1:4 [1 Teil Vollblut und 3 Teile Dimension® Level 1 (0 ng/ml), CSA-Kalibrator], um eine geschätzte Cyclosporinkonzentration zu erhalten. Geben Sie den Verdünnungsfaktor (4) ein, und wiederholen Sie den Test. Im Ergebnisausdruck wird die Verdünnung berücksichtigt.

Wenn für das CSA-Ergebnis der manuell im Verhältnis 1:4 verdünnten Probe weiterhin „Above Assay Range“ oder „Assay Range“ ausgegeben wird, sollte das CSA-Ergebnis als „größer als 2000 ng/ml [1664.0 nmol/l]“ angegeben werden.

Automatische Verdünnung: Nicht verfügbar für Vollblutmethoden.

Für Proben mit Ergebnissen unter 25 ng/ml [20.8 nmol/l] sollte „weniger als 25 ng/ml [20.8 nmol/l]“ ausgegeben werden.

Grenzen des Verfahrens

Patientenproben können heterophile Antikörper enthalten, die in Immunoassays zu Reaktionen führen und fälschlicherweise erhöhte oder zu niedrige Ergebnisse zurückgeben können. Dieser Test wurde zur Minimierung von Interferenzen durch heterophile Antikörper entwickelt. Dennoch kann ein vollständiger Ausschluss dieser Interferenz nicht bei allen Patientenproben garantiert werden. Ein Testergebnis, das mit dem klinischen Bild und der Vorgeschichte des Patienten nicht übereinstimmt, sollte mit Vorsicht interpretiert werden.^{10,11}

Der Test wurde ebenfalls entwickelt, um die Interferenz durch Antikörper auf β-Galactosidase zu minimieren. Diese Antikörper können aufgrund einer bakteriellen Infektion in Proben vorliegen und fälschlicherweise erhöhte Ergebnisse zurückgeben, die möglicherweise nicht mit der klinischen Auswertung übereinstimmen. Unter sehr seltenen Umständen können Immunoassays aufgrund anderer Patienten-spezifischer Störfaktoren fälschlicherweise erhöhte oder zu niedrige Ergebnisse zurückgeben.¹²

Bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion und bei Patienten, die andere Medikamente einnehmen, die die mikrosomale Enzymaktivität auslösen oder hemmen, wird der routinemäßige Einsatz der Dimension® Cyclosporin-Vollblut-Testanalyse möglicherweise durch HPLC-Daten ergänzt, um mögliche Änderungen in der Biotransformation und Ausscheidung auszuwerten.

Das integrierte Meldesystem des Geräts macht das Bedienpersonal durch Fehlermeldungen auf bestimmte Fehlfunktionen aufmerksam. Alle Befundblätter, die derartige Fehlermeldungen enthalten, für Folgemaßnahmen aufbewahren. Siehe Dimension®-Bedienungsbandbuch.

Treten die im Folgenden aufgeführten Präzisionswerte bei 5-Bestimmung auf, kann es sich um eine Fehlfunktion des Systems handeln:

Konzentration	SA
200 ng/ml [166.4 nmol/l]	> 20.4 ng/ml [17.0 nmol/l]
350 ng/ml [291.2 nmol/l]	> 35.2 ng/ml [29.3 nmol/l]

HINWEIS: Pipettieren Sie für eine 5-Bestimmung der Präzisionswerte 300 µl des CSA-Kalibrators Level 3 und 4 in separate Proben-Cups. Fordern Sie fünf Replikate der CSA-Messungen für jedes Kalibrator-Level an. Bewerten Sie die SA für jedes Level mit den oben genannten Richtlinien.

Erwartete Werte

ACHTUNG: Es gibt keinen universell festgelegten therapeutischen Bereich für Cyclosporin in Vollblut. Werte, die mit unterschiedlichen Testmethoden erzielt werden, können aufgrund von Unterschieden der Testmethoden und Reagenzspezifität nicht gleichwertig verwendet werden.

Einzelne Cyclosporinwerte können nicht als alleiniger Indikator für die Durchführung von Änderungen an der Behandlung verwendet werden. Jeder Patient sollte sorgfältig klinisch untersucht werden, bevor Änderungen an der Behandlung vorgenommen werden, und jeder Benutzer muss basierend auf diesen klinischen Ergebnissen seine eigenen Bereiche festlegen. Aufgrund von variierenden Kreuzreaktionsmustern mit Metaboliten, wird der konsistente Einsatz eines Tests für einen bestimmten Patienten empfohlen. Konvertierungsfaktoren, die bei Testmethodenvergleichen ermittelt werden, sollten nicht zur Vorhersage von Werten für einzelne Patienten verwendet werden.

Die Komplexität des klinischen Zustands, individuelle Unterschiede hinsichtlich der Sensitivität gegenüber Immunsuppressiva und nephrotoxische Effekte von Cyclosporin, die gleichzeitige Verabreichung anderer Immunsuppressiva, der Transplantationstyp, die Zeit nach der Transplantation und eine ganze Reihe anderer Faktoren sind für die unterschiedlichen Anforderungen für optimale Blutkonzentrationen von Cyclosporin verantwortlich.¹³

Spezifische Leistungsdaten¹

Die folgenden Daten stellen die typische Leistung für das Dimension®-System dar.

Material	Präzision ^{a,b}		Standardabweichung (% VK)	
	Mittelwert		In der Serie	
	ng/ml	[nmol/l]	ng/ml	[nmol/l]
QK-Level 1*	65	[54.1]	3.4	[2.8] (5.2)
QK-Level 2	151	[125.6]	6.5	[5.4] (4.3)
QK-Level 3	400	[332.8]	17.3	[14.4] (4.3)
Vollblutpool-1**	83	[69.1]	4.9	[4.1] (5.9)
Vollblutpool-2	132	[109.8]	5.5	[4.6] (4.2)
Vollblutpool-3	219	[182.2]	7.7	[6.4] (3.5)
Vollblutpool-4	369	[307.0]	13.5	[11.2] (3.6)
			Gesamt	
			ng/ml	[nmol/l]
			5.3	[4.4] (8.2)
			8.1	[6.7] (5.4)
			19.0	[15.8] (4.8)
			6.0	[5.0] (7.3)
			8.1	[6.7] (6.2)
			9.5	[7.9] (4.3)
			14.4	[12.0] (3.9)

*More Diagnostics Tac/CsA-Immunsuppressivkontrollen, More Diagnostics Inc, Los Osos, CA 93402.

**Vollblutpool (1,2,3) vorbereitet aus EDTA-Vollblut und gravimetrisch um Cyclosporin zu den oben genannten Levels ergänzt.

- Alle Experimente zur Ermittlung der spezifischen Testleistung wurden nach den üblichen empfohlenen Qualitätskontrollprüfungen des Geräts durchgeführt. (Siehe Dimension®-Bedienungsbandbuch.)
- Die Reproduzierbarkeitstests wurden gemäß der NCCLS Guideline for User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices (EP5-A2, 2004) durchgeführt.
- Proben jedes Konzentrations-Levels wurden an 20 Tagen einmal täglich in Doppelbestimmung analysiert. Die Standardabweichungen in der Serie und die Gesamt-Standardabweichung wurden mit Hilfe einer Varianz-Analyse berechnet.

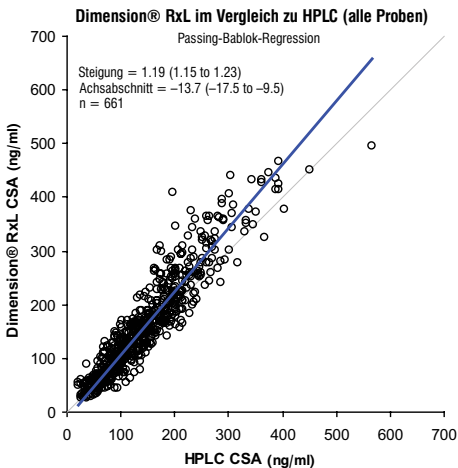
Methodenvergleich Regressionsstatistik ^k				
Vergleichsmethode	Steigung	Achsabschnitt ng/ml [nmol/l]	Korrelationskoeffizient	n ^l
Abbott TDx®				
Alle	0.83	-21.3 [-17.7]	0.957	667
Herz	0.83	-20.9 [-17.4]	0.927	111
Leber	0.82	-26.3 [-21.9]	0.952	201
Niere	0.83	-18.8 [-15.6]	0.966	279
HPLC				
Alle	1.19	-13.7 [-11.4]	0.935	661
Herz	1.28	-16.0 [-13.3]	0.893	111
Leber	1.18	-13.3 [-11.1]	0.961	201
Niere	1.13	-8.9 [-7.4]	0.920	273

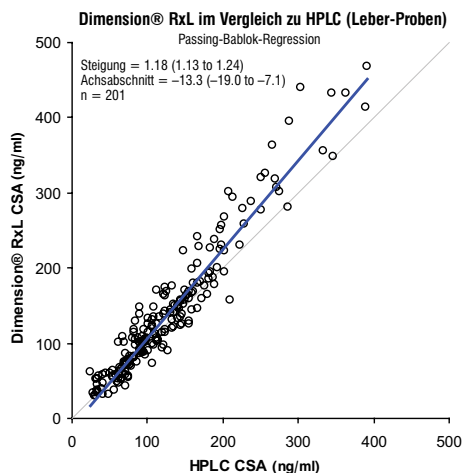
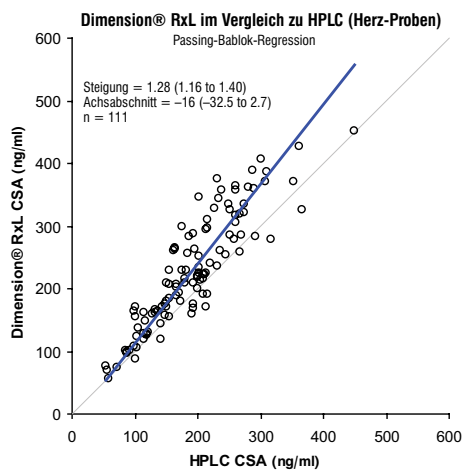
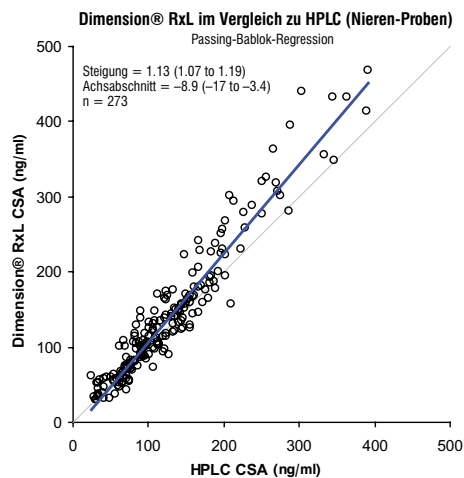
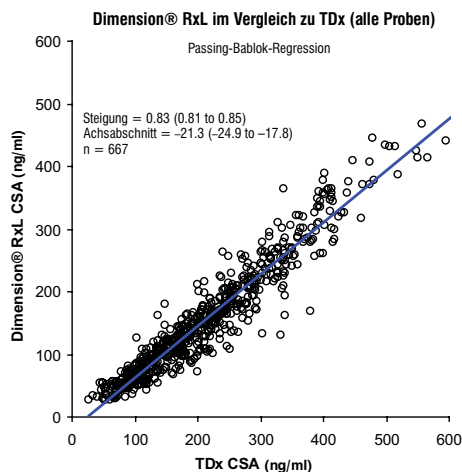
- Passing-Bablok¹⁴-Methode wurde zur Anpassung der linearen Regressionslinie verwendet. Die Modellgleichung für die Regressionsstatistik lautet: Ergebnis für Dimension®-System = (Steigung x Ergebnis Vergleichsmethode) + Achsabschnitt.

Hinweis: Regression der Dimension®-CSA-Methode (y) im Vergleich zu HPLC (x) wurde ebenfalls mit der einfachen Kleinste-Quadrate-Regressionsmethode durchgeführt. Der Regressionsfehler des Schätzwerts (sy/x) betrug 32.3 ng/ml [26.9 nmol/l] (ALLE); 40.5 ng/ml [33.7 nmol/l] (HERZ); 24.7 ng/ml [20.6 nmol/l] (LEBER); 25.4 ng/ml [21.1 nmol/l] (NIERE).

- Der Bereich der CSA-Werte in der Korrelationsstudie lag zwischen 27.3 und 494.3 ng/ml [22.7 bis 411.6 nmol/l]. Die Anzahl der Patienten (Erwachsene, 23 – 76 Jahre) in den oben aufgeführten Methodenvergleichen für jede Organtransplantationsgruppe beträgt: 36 (Herz); 44 (Leber); 68 (Niere); 32 (Knochenmark und Lunge).

TDx® ist eine eingetragene Marke von Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL 60064, USA.





Spezifität

Nicht störende Substanzen

Die folgenden Substanzen haben keinen Einfluss auf CSA-Testergebnisse, wenn sie in den genannten Konzentrationen im Vollblut enthalten sind. Ungenauigkeiten (Abweichungen) aufgrund dieser Substanzen belaufen sich auf unter 10 % bei einer CSA-Konzentration von 200 ng/ml [166.5 nmol/l]:

Substanz	Testkonzentration	SI-Einheiten
Acetaminophen	20 mg/dl	1322 µmol/l
Amikacin	15 mg/dl	256 µmol/l
Amikacinsulfat	100 µg/ml	127.9 µmol/l
Amphotericin B	100 µg/ml	108.2 µmol/l
Ampicillin	5 mg/dl	143 µmol/l
Apresolin	100 µg/ml	508.7 µmol/l
Ascorbinsäure	3 mg/dl	170.3 µmol/l
Azathioprin	100 µg/ml	360.6 µmol/l
Bilirubin	60 mg/dl	1026 µmol/l
Koffein	10 mg/dl	515 µmol/l
Carbamazepin	12 mg/dl	508 µmol/l
Cephalosporin	100 µg/ml	208.9 µmol/l
Chloramphenicol	25 mg/dl	774 µmol/l
Chlorpromazin	5 mg/dl	157 nmol/l
Cholesterin	500 mg/dl	12.9 mmol/l
Cimetidin	10 mg/dl	396 µmol/l
Kreatinin	30 mg/dl	2652 µmol/l
Dextran 75	2500 mg/dl	333 µmol/l
Diazepam	2 mg/dl	70 µmol/l
Digoxin	5 ng/ml	6.4 nmol/l
Digitoxin	100 µg/ml	130.7 µmol/l
Dipyridamol	100 µg/ml	198.2 µmol/l
Disopyramid	100 µg/ml	294.6 µmol/l
Erythromycin	20 mg/dl	273 µmol/l
Ethanol	350 mg/dl	76 mmol/l
Ethosuximid	30 mg/dl	2125 µmol/l
FK506 (Tacrolimus)	0.1 µg/ml	0.12 µmol/l
Furosemid	2 mg/dl	61 µmol/l
Gentamicin	12 mg/dl	251 µmol/l
Hämoglobin	1000 mg/dl	0.62 mmol/l (Monomer)
Heparin	8000 U/l	8000 U/l
Ibuprofen	40 mg/dl	1939 µmol/l
Immunglobulin G	6 g/dl	60 g/l
Kanamycin A	100 µg/ml	171.6 µmol/l
Kanamycinsulfat B	100 µg/ml	206.8 µmol/l
Ketoconazol	100 µg/ml	188.2 µmol/l
Lidocain	6 mg/dl	256 µmol/l
Lincomycin	100 µg/ml	225.7 µmol/l
Lipämie	1500 mg/dl	16.95 mmol/l (Triglycerid)
Lithium	3.5 mg/dl	5.07 mmol/l (Lithiumchlorid)
Methotrexat	100 µg/ml	220 µmol/l
Methylprednisolon	100 µg/ml	267 µmol/l
Mycophenolsäure	100 µg/ml	312.1 µmol/l
N-Acetylprocainamid	100 µg/ml	360.5 µmol/l
Neomycinsulfat	100 µg/ml	110 µmol/l
Nikotin	2 mg/dl	123 µmol/l
Oxytocin	100 µg/ml	99.3 µmol/l
Penicillin G	25 U/ml	25000 U/l
Pentobarbital	10 mg/dl	442 µmol/l
Phenobarbital	15 mg/dl	646 µmol/l
Phenytoin	10 mg/dl	396 µmol/l
Prazosin	100 µg/ml	238.2 µmol/l
Prednisolon	100 µg/ml	277.5 µmol/l
Prednison	100 µg/ml	279 µmol/l
Primidon	10 mg/dl	458 µmol/l

Procainamid	100 µg/ml	367.9 µmol/l
Propoxyphen	0.4 mg/dl	12 µmol/l
Propranolol	100 µg/ml	338 µmol/l
Eiweiß (Albumin)	6 g/dl	60 g/l
Eiweiß (Gesamt)	4 g/dl	40 g/l
Eiweiß (Gesamt)	12 g/dl	120 g/l
Chinidin	100 µg/ml	308.3 µmol/l
Rapamycin	0.1 µg/ml	0.11 µmol/l
Rheumafaktor	500 IU/ml	500 IU/ml
Rifampin	100 µg/ml	121.5 µmol/l
Salicylsäure	50 mg/dl	3.62 mmol/l
Spectinomycin	100 µg/ml	246.7 µmol/l
Streptomycin	100 µg/ml	68.6 µmol/l
Theophyllin	25 mg/dl	1388 µmol/l
Tobramycin	100 µg/ml	213.9 µmol/l
Tocainid	100 µg/ml	438.6 µmol/l
Triamteren	100 µg/ml	394.8 µmol/l
Harnstoff	500 mg/dl	83.3 mmol/l
Harnsäure	20 mg/dl	1.2 mmol/l
Valproinsäure	50 mg/dl	3467 µmol/l
Vancomycin	100 µg/ml	67.3 µmol/l
Verapamil	100 µg/ml	203.6 µmol/l

Kreuzreaktivität

Sechs wichtige Metabolite wurden auf Kreuzreaktivität bei 200 ng/ml [166.5 nmol/l] Cyclosporin hin untersucht. Der Kreuzreaktivitätsprozentsatz wurde folgendermaßen berechnet:

$$\% \text{ Kreuzreaktivität} = \frac{\text{gemessene CSA} - \text{Kontroll-CSA (200 ng/ml) [166.5 nmol/l]}}{\text{hinzugefügter Metabolit}} \times 100$$

Cyclosporin-Metabolit	Getestetes Metabolit-Level ng/ml [nmol/l]	Kreuzreaktivität%
AM1 (M17)	1000 [821]	1.8
AM1c (M18)	1000 [821]	1.1
AM1c9 (M26)	1000 [810]	1.7
AM4N (M21)	1000 [842]	6.0
AM9 (M1)	1000 [821]	2.1
AM19 (M8)	1000 [810]	1.8

Wiederfindung

Bekannte Mengen an CSA wurden den Humanvollblutproben in Konzentrationen von 100, 200, 300 und 400 ng/ml [83.3, 166.5, 249.8, 333.0 nmol/l] hinzugefügt. Die CSA-Konzentrationen in diesen Proben wurden anschließend gemessen und der Bereich der berechneten prozentualen Wiederfindung lag bei 93.0 % bis 101.4 %, der mittlere Wiederfindungswert betrug 96.6 %.

$$\text{Prozent Wiederfindung} = \frac{\text{Gemessener Wert} - \text{Basiswert}}{\text{Hinzugefügte Menge}} \times 100$$

Linearität

Die Cyclosporin-Analyse auf Dimension® RxL mit der Dimension®-CSA-Methode zeigt eine Abweichung von der geschätzten Linie von weniger als 10 ng/ml [8.3 nmol/l] mit 95 % Konfidenz bei einer Analysekonzentration von 200 ng/ml [166.5 nmol/l]. Die untere Grenze des Linearitätsanspruchs liegt bei 25 ng/ml [20.8 nmol/l].

Nachweisgrenze: 25 ng/ml [20.8 nmol/l]

Die Nachweisgrenze für CSA liegt bei 25 ng/ml; dies wurde in Übereinstimmung mit der CLSI-Richtlinie EP-17A und mit Anteilen von falsch Positiven (α) unter 5 % und falsch Negativen (β) unter 5 % bestimmt. Basiert auf 120 Bestimmungen, mit 5 leeren Proben und 5 Proben mit niedriger Konzentration.¹⁵

Funktionale Sensitivität: 30 ng/ml [25.0 nmol/l]

Die funktionale Sensitivität von CSA wurde durch die Analyse mehrerer Proben (10 – 70 ng/ml) und die Bewertung der Gesamtpräzision für diese Proben bestimmt. Die Studie wurde über einen Zeitraum von sechs Wochen mit 12 Testtagen, d. h. 1 Durchlauf pro Tag, durchgeführt, wobei einzelne Proben auf zwei Geräten mit zwei Reagenzchargen analysiert wurde. Der Test umfasste Daten aus zwei Kalibrationen. Der Varianzkoeffizient zwischen den Tests wurde anhand einer nicht linearen Regression im Vergleich zur Konzentration aufgetragen. Die funktionale Sensitivität (bei 20 % VK) betrug 30 ng/ml [25.0 nmol/l].

Symbolschlüssel: Siehe Verzeichnis im Anhang.

Literatur: Siehe Verzeichnis im Anhang.

Dimension®, Flex®, EXL™ und LOCI® sind Warenzeichen von Siemens Healthcare Diagnostics.

©2009 Siemens Healthcare Diagnostics
Alle Rechte vorbehalten.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

CSA

Voir les sections ombrées : Informations mises à jour à partir de la version 2015-02.

Date d'édition 2019-04-08

Cyclosporine A

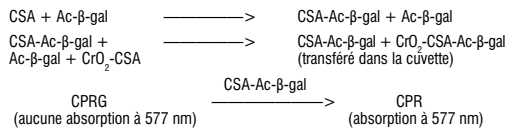
Utilisation : La méthode CSA est un test diagnostique *in vitro* conçu pour le dosage quantitatif de la cyclosporine A (CSA) dans le sang total humain sur le système de chimie clinique Dimension®. Les dosages de CSA s'utilisent pour faciliter la prise en charge des transplantés du cœur, du foie et des reins.

Résumé : La cyclosporine est un undécapéptide cyclique d'origine fongique et un puissant immunosuppresseur. Un taux insuffisant de cyclosporine peut entraîner le rejet de l'organe transplanté. Un taux toxique de cyclosporine est associé à de nombreux effets indésirables graves, notamment néphrotoxicité et hépatotoxicité. La surveillance des concentrations de la substance-mère de la cyclosporine dans le sang total et l'interprétation de ces valeurs conjointement avec d'autres données de laboratoire et considérations cliniques est le moyen le plus efficace de garantir un traitement immunosuppresseur approprié aux receveurs de greffe d'organe plein.^{1,2,3}

La cyclosporine est métabolisée en grande partie par le foie. Le taux de cyclosporine circulante peut être influencé par les médicaments qui agissent sur les enzymes microsomiques hépatiques, en particulier celles du système à cytochrome P-450. Les substances connues pour inhiber ces enzymes, comme la cimétidine, le kétoconazole et la méthylprednisolone, atténueront le métabolisme hépatique et augmenteront le taux de cyclosporine. Les inducteurs de l'activité du cytochrome P-450, notamment la rifampine, la phénytoïne, le phénobarbital et la carbamazépine, stimuleront le métabolisme hépatique et abaisseront le taux de cyclosporine.⁴

Principes de la méthode : La méthode automatisée Dimension® CSA fait appel à une technique d'immunodosage dans laquelle les espèces enzymes-anticorps libres et liées à la CSA sont séparées au moyen de particules magnétiques. Le dosage est effectué en utilisant une cartouche de réactifs Flex® propre à cette méthode. La cartouche Flex® contient un réactif de prétraitement, un anticorps anti-CSA conjugué à la β-galactosidase, de la CSA immobilisée sur des particules de bioxyde de chrome, un substrat rouge de chlorophénol-β-D-galactopyranoside (CPRG) et du diluant pour hydrater les comprimés.

Pour effectuer le dosage CSA, une cupule d'échantillon contenant l'échantillon de sang total à analyser et une cartouche de réactifs Flex® CSA sont disposées comme il convient sur le système Dimension®. Le système Dimension® mélange et lyse l'échantillon de sang total. L'échantillon lysé est ensuite mélangé avec le réactif de conjugué d'anticorps. La CSA présente dans l'échantillon est liée par le réactif du conjugué d'anticorps anti-CSA. Des particules magnétiques recouvertes de cyclosporine A sont ajoutées au conjugué anticorps-enzyme libre (non lié). Le mélange réactionnel est ensuite séparé de façon magnétique. Après séparation, le surnageant contenant le complexe CSA-anticorps-enzyme est transféré dans une autre cuvette et mélangé avec le substrat. La β-galactosidase catalyse l'hydrolyse du CPRG (rouge de chlorophénol-β-D-galactopyranoside) en CPR (rouge de chlorophénol) dont le pic d'absorption lumineuse se situe à 577 nm. La variation d'absorbance à 577 nm due à la formation de CPR est directement proportionnelle à la quantité de CSA présente dans l'échantillon du patient et se mesure grâce à une technique cinétique bichromatique (577, 700 nm).



Réactifs

Puits ^a	Forme	Composant	Concentration ^b	Origine
1,2	Liquide	Ac-β-galactosidase	c	Souris, monoclonal
3,4	Comprimé ^d	CSA-CrO ₂	3.4 mg/comprimé	
5,6	Comprimé ^d	CPRG	9.3 mg/comprimé	
7	Liquide	Diluant substrat		
8	Liquide	Réactif de prétraitement		

- Les puits sont numérotés consécutivement, depuis l'extrémité la plus large de la cartouche.
- Valeur nominale par comprimé à la fabrication.
- La concentration en anticorps et l'activité du conjugué varient selon les lots.
- Les comprimés contiennent du sérum-albumine bovin exempt de protéase, de la gammaglobuline bovine, du sérum-albumine bovin à 30 %, des excipients, des tampons et des stabilisateurs.

Risque et sécurité :

H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Avertissement

Peut provoquer une allergie cutanée.

Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Éliminer les contenus et les contenants conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.

Contient : 5-chloro-2-méthyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-méthyl-3(2h)-isothiazolone; Oxyde de chrome.

Les fiches de sécurité sont disponibles sur www.siemens.com/diagnostics

Précautions : Les cuvettes utilisées contiennent des liquides biologiques humains. Les manipuler avec soin pour éviter tout risque de contact avec la peau ou d'ingestion.

Pour diagnostic *in vitro*

Préparation des réactifs : L'hydratation, la dilution et le mélange sont automatiquement réalisés par l'instrument.

Conserver entre : 2 – 8 °C

Péremption : Voir la date de péremption indiquée sur l'emballage de chaque cartouche de réactifs non ouverte. Les puits de cartouche scellés ou non hydratés sont stables sur l'instrument pendant 30 jours.

Stabilité des puits ouverts : 3 jours pour les puits 1 – 6
10 jours pour les puits 7 – 8

Prélèvement et manipulation des échantillons : Types d'échantillon recommandés : Utiliser uniquement du sang total avec EDTA, prélevé selon les procédures normales.⁵

Le sang peut être prélevé en suivant les procédures recommandées de prélèvement d'échantillons sanguins à usage diagnostique par ponction veineuse.⁵

Suivre les instructions d'utilisation et de traitement fournies avec le dispositif de prélèvement des échantillons.⁶

Un échantillon de point minimal est recommandé pour le dosage de la cyclosporine. Pour garantir une interprétation correcte des résultats, noter l'heure de la prise de sang par rapport à la dernière dose de cyclosporine.

Mélanger soigneusement les échantillons fraîchement prélevés, réfrigérés et décongelés avant l'emploi pour laisser la température s'équilibrer et permettre une distribution uniforme de la cyclosporine dans le sang total.⁷

Ne pas utiliser les échantillons qui contiennent des particules et des caillots.

Les échantillons de sang total sont stables pendant 7 jours à température ambiante.⁸ Les échantillons de sang total peuvent être réfrigérés à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant 7 jours au maximum. Les échantillons à stocker de façon prolongée doivent être congelés à -20 °C.⁹

Éviter de multiplier les cycles de congélation et décongélation.

Procédure

Matériel fourni

Cartouche de réactifs Flex® CSA, réf : DF89A

Matériel requis mais non fourni

Nettoyant de sonde échantillon, réf : RD703
Nettoyant de sonde réactif, réf : RD702
Calibrateur CSA, réf : DC89
Cuves réactionnelles (nécessaires pour HM seulement), réf : RXV1A
Matériel de contrôle de qualité

Étapes du dosage

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange, la séparation, le traitement et l'impression des résultats sont automatiquement réalisés par le système Dimension® avec le module d'immunodosage hétérogène.

- Mélanger délicatement, mais intégralement, l'ensemble des calibrateurs, des contrôles et des échantillons immédiatement avant l'emploi. Mélanger à la main ou sur un plateau à bascule ou oscillant. **NE PAS VORTXER.**
- Transférer **200 µl** dans une cupule d'échantillon pour le traitement sur le système Dimension®. Le prélèvement doit être échantillonné dans les 30 minutes suivant sa mise en place dans la roue d'échantillons.

- Ne pas traiter de tubes primaires directement sur le système Dimension® avec cette méthode.**

Pour les détails du traitement, voir le guide de l'opérateur du système Dimension®.

Conditions du dosage

Cuve réactionnelle	
Réactif de prétraitement	70 µl
Volume d'échantillon	5 µl
Anticorps-β-galactosidase	50 µl
CSA - CrO ₂	50 µl
Température d'incubation	42 °C*
*Dimension® EXL™ avec module LOCI® : 37 °C	
Cuvette réactionnelle	
Volume de transfert	54 µl
Volume de réactif CPRG	150 µl
Volume de diluant	191 µl
Température	37.0 °C
Longueur d'onde	577 et 700 nm
Type de mesure	cinétique bichromatique

Étalonnage	
Domaine de mesure	25 - 500 ng/ml [20.8 - 416.3 nmol/l]*
Matériel d'étalonnage	Calibrateur CSA, réf : DC89
Schéma d'étalonnage	5 niveaux, quatre au niveau 1, trois au niveau 2, deux au niveau 3 et trois aux niveaux 4 et 5.
Unités	ng/ml [nmol/l] (ng/ml x 0.832) = [nmol/l]
Niveaux d'étalonnage types	0, 100, 200, 350, 500 ng/ml [0.0, 83.2, 166.4, 291.2, 416.0 nmol/l]
Fréquence d'étalonnage	Tous les 30 jours pour chaque lot
Un nouvel étalonnage est requis	- Pour chaque nouveau lot de cartouches de réactifs Flex® - Après une maintenance ou une réparation majeure, en fonction des résultats du contrôle de qualité - Comme indiqué dans les procédures de contrôle de qualité du laboratoire - Selon les réglementations nationales en vigueur
Coefficients attribués	C ₀ 41.9 C ₁ 746 C ₂ -2.25 C ₃ 562 C ₄ 0.5

e. Les unités SI (système international d'unités) sont indiquées entre crochets.

Contrôle de qualité

Analyser au moins une fois par jour d'utilisation, deux niveaux d'un matériel de contrôle de qualité, aux concentrations connues de cyclosporine. Suivre les procédures de contrôle de qualité internes du laboratoire si les résultats obtenus ne sont pas compris dans les limites acceptables.

Résultats : L'instrument calcule et imprime automatiquement la concentration de CSA en ng/ml [nmol/l] en suivant le schéma de calcul illustré dans le guide de l'opérateur du système Dimension®.

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés conjointement avec les antécédents médicaux du patient, le tableau clinique et autres constatations.

Domaine de mesure analytique (AMR) : 25 – 500 ng/ml [20.8 – 416.3 nmol/l]

Il s'agit du domaine des valeurs d'analyte pouvant être mesurées directement dans l'échantillon, sans dilution ni traitement préalable, qui ne fait pas partie de la méthode d'analyse usuelle et qui est équivalent au domaine de mesure.

Les échantillons dont les résultats sont supérieurs à 500 ng/ml [416.3 nmol/l] sont signalés comme « supérieurs au domaine de mesure » et doivent être dosés avec la méthode CSAE (DF108), laquelle permet un dosage quantitatif de la CSA entre 350 – 2000 ng/ml [291.7 – 1666.7], ou répétés à la dilution.

Dilution manuelle : Diluer au 1:4 [1 volume de sang total et 3 volumes du niveau 1 (0 ng/ml) du calibrateur Dimension® CSA] pour obtenir une estimation de la concentration en cyclosporine. Saisir le facteur de dilution (4). Redoser. Le résultat lu tient compte de la dilution.

Si le résultat CSA obtenu sur l'échantillon dilué manuellement au 1:4 est encore qualifié de « supérieur au domaine de mesure » ou « domaine de mesure », le résultat CSA doit apparaître comme « supérieur à 2000 ng/ml [1664.0 nmol/l] ».

Dilution automatique (DA) : Non disponible avec les méthodes portant sur le sang total.

Les échantillons dont les résultats sont inférieurs à 25 ng/ml [20.8 nmol/l] doivent apparaître comme « inférieurs à 25 ng/ml [20.8 nmol/l] ».

Limites de la procédure

Les échantillons de patients peuvent contenir des anticorps hétérophiles qui pourraient réagir lors des immunodosages et donner des résultats faussement élevés ou bas. Ce dosage a été conçu pour réduire au maximum les interférences dues aux anticorps hétérophiles. Néanmoins, l'élimination totale de ces interférences pour l'ensemble des échantillons de patients ne peut pas être garantie. Un résultat de test qui n'est pas conforme au tableau clinique et aux antécédents du patient doit être interprété avec prudence.^{10,11}

Le dosage a été également conçu pour réduire au maximum les interférences dues aux anticorps dirigés contre la β-galactosidase. Ces anticorps peuvent être présents dans les échantillons à la suite d'une infection bactérienne et produire des résultats faussement élevés qui peuvent ne pas être conformes à l'évaluation clinique. Dans de rares cas, les immunodosages peuvent produire des résultats faussement élevés ou bas dus à d'autres substances interférentes propres au patient.¹²

En cas d'insuffisance hépatique et chez les patients qui reçoivent d'autres médicaments susceptibles d'induire ou d'inhiber l'activité enzymatique microsomale, l'utilisation en routine de l'analyse par le dosage de la cyclosporine sur le sang total Dimension® peut être confortée par des résultats de C.L.H.P. afin d'évaluer les changements éventuels de biotransformation et d'élimination.

Le système de rapport de l'instrument renvoie des messages d'erreurs signalant à l'opérateur des dysfonctionnements particuliers. Tout message d'erreur renvoyé doit être conservé afin d'y donner suite de manière appropriée. Voir le guide de l'opérateur du système Dimension®.

Il peut y avoir un dysfonctionnement du système si la précision suivante est observée lors de 5-tests consécutifs :

Concentration	E-T
200 ng/ml [166.4 ng/ml]	> 20.4 ng/ml [17.0 nmol/l]
350 ng/ml [291.2 nmol/l]	> 35.2 ng/ml [29.3 nmol/l]

REMARQUE : Pour effectuer un contrôle de précision sur 5-tests, pipetter 300 µl de calibrateur CSA aux niveaux 3 et 4 dans des cupules d'échantillon distinctes. Demander cinq répliquats de dosage CSA pour chaque niveau de calibrateur. Evaluer l'écart-type obtenu pour chaque niveau en suivant les directives précitées.

Valeurs attendues

ATTENTION : Il n'existe pas de domaine thérapeutique universellement établi pour la cyclosporine dans le sang total. Les valeurs obtenues selon d'autres méthodes de dosage ne peuvent pas être utilisées de façon interchangeable en raison des différences en matière de méthodes de dosage et de spécificité des réactifs.

Les dosages individuels de la cyclosporine ne peuvent pas servir d'unique indicateur pour apporter des changements au schéma thérapeutique. Chaque patient doit être soigneusement évalué au plan clinique avant que soient apportés des ajustements au traitement et chaque utilisateur doit établir ses propres domaines de valeurs d'après ces expériences cliniques. En raison des profils variables de réactivité croisée avec les métabolites, l'utilisation constante d'un même dosage pour chaque patient est recommandée. Les facteurs de conversion obtenus à partir des comparaisons de méthodes de dosage ne doivent pas servir à prédire des valeurs pour chaque patient.

La complexité de l'état clinique, les différences individuelles de sensibilité aux effets immunosuppresseurs et néphrotoxiques de la cyclosporine, l'administration conjointe d'autres immunosuppresseurs, le type de transplantation, le moment après la transplantation et un certain nombre d'autres facteurs contribuent à des exigences différentes pour des taux sanguins optimaux de cyclosporine.¹³

Caractéristiques spécifiques de performance¹

Les données suivantes représentent les performances types du système Dimension®.

Matériel	Précision ^{a,b}		Écart-type (CV %)	
	Moyenne	Intra-séries	Total	
	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]	
Niveau de contrôle de qualité 1*	65 [54.1]	3.4 [2.8] (5.2)	5.3 [4.4] (8.2)	
Niveau de contrôle de qualité 2*	151 [125.6]	6.5 [5.4] (4.3)	8.1 [6.7] (5.4)	
Niveau de contrôle de qualité 3*	400 [332.8]	17.3 [14.4] (4.3)	19.0 [15.8] (4.8)	
Mélange de sang total-1**	83 [69.1]	4.9 [4.1] (5.9)	6.0 [5.0] (7.3)	
Mélange de sang total-2	132 [109.8]	5.5 [4.6] (4.2)	8.1 [6.7] (6.2)	
Mélange de sang total-3	219 [182.2]	7.7 [6.4] (3.5)	9.5 [7.9] (4.3)	
Mélange de sang total-4	369 [307.0]	13.5 [11.2] (3.6)	14.4 [12.0] (3.9)	

*Contrôles immunosuppresseurs Tac/CsA More Diagnostics, More Diagnostics Inc, Los Osos, CA 93402.

**Mélange de sang total (1,2,3) préparé à partir de sang total avec EDTA et supplémenté en poids avec de la cyclosporine jusqu'aux concentrations ci-dessus.

f. Tous les tests des caractéristiques spécifiques de performance ont été effectués après réalisation normale du contrôle de qualité tel que préconisé pour le système. (Voir le guide de l'opérateur du système Dimension®).

g. Les tests de reproductibilité ont été effectués conformément aux recommandations du NCCLS pour l'évaluation par l'utilisateur de la précision des dispositifs de chimie clinique (EP5-A2, 2004).

h. Les échantillons ont été analysés en double à chaque niveau, une fois par jour, pendant 20 jours. Les écarts types intra-séries et totaux ont été calculés par la méthode de l'analyse de la variance.

Comparaison de méthode Statistiques de régression¹

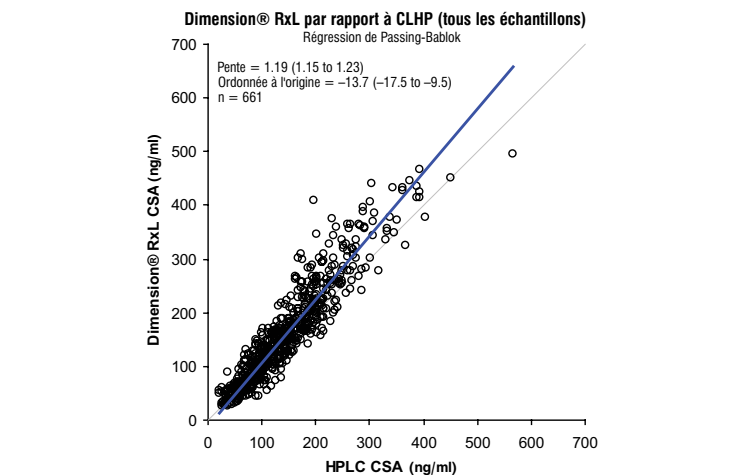
Méthode comparative	Pente	Ordonnée à l'origine ng/ml [nmol/l]	Coefficient de corrélation	n ¹
Abbott TDx®				
Tout	0.83	-21.3 [-17.7]	0.957	667
Coeur	0.83	-20.9 [-17.4]	0.927	111
Foie	0.82	-26.3 [-21.9]	0.952	201
Rein	0.83	-18.8 [-15.6]	0.966	279
CLHP				
Tout	1.19	-13.7 [-11.4]	0.935	661
Coeur	1.28	-16.0 [-13.3]	0.893	111
Foie	1.18	-13.3 [-11.1]	0.961	201
Rein	1.13	-8.9 [-7.4]	0.920	273

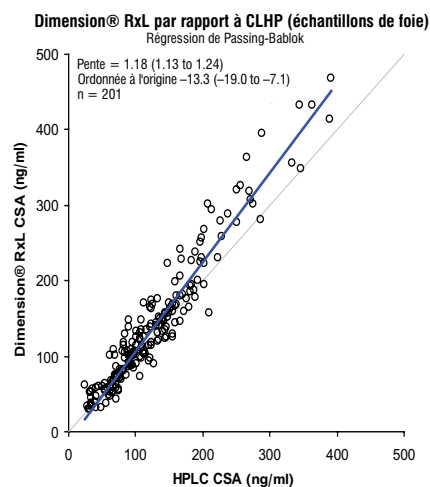
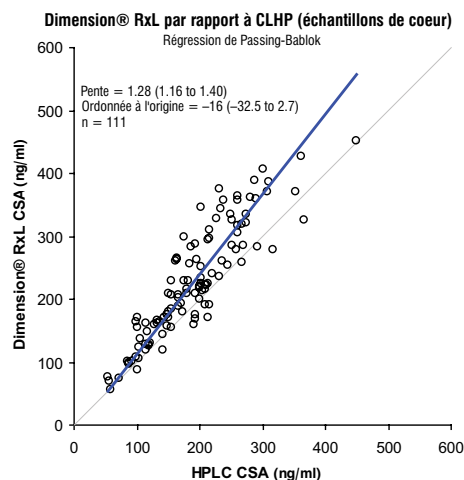
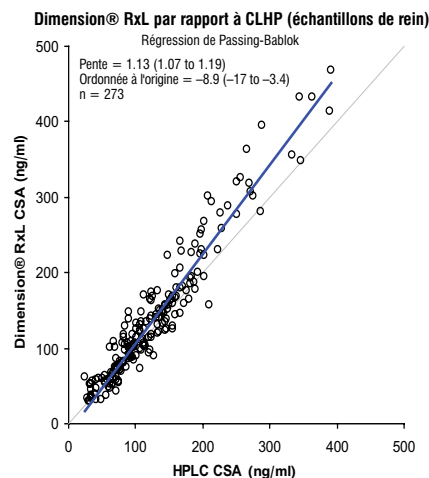
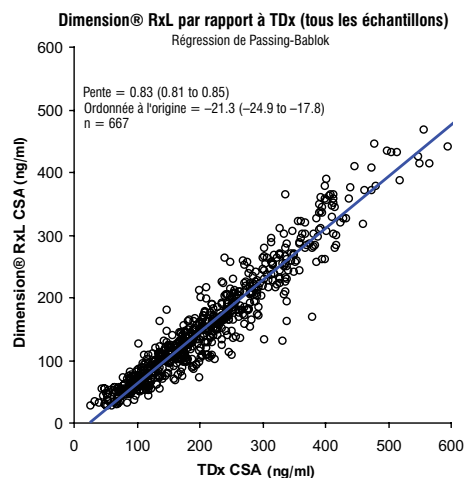
i. La méthode Passing-Bablok¹⁴ a été utilisée pour ajuster la droite de régression linéaire. Équation du modèle pour les statistiques de régression : Résultats du système Dimension® = (pente x résultat de la méthode comparative) + ordonnée à l'origine.

Remarque : L'analyse de régression de la méthode CSA Dimension® (y) par rapport aux résultats de C.L.H.P. a été également effectuée selon la méthode standard d'analyse de régression des moindres carrés. L'erreur de régression de l'estimation (sy/x) était de 32.3 ng/ml [26.9 nmol/l] (TOUT) ; 40.5 ng/ml [33.7 nmol/l] (COEUR) ; 24.7 ng/ml [20.6 nmol/l] (FOIE) ; 25.4 ng/ml [21.1 nmol/l] (REIN).

j. L'intervalle des valeurs de CSA dans l'étude de corrélation était de 27.3 à 494.3 ng/ml [22.7 – 411.6 nmol/l]. Le nombre de patients individuels (adultes âgés de 23 à 76 ans), représenté dans les comparaisons des méthodes ci-dessus pour chaque groupe de transplantation d'organe, est le suivant : 36 (coeur) ; 44 (foie) ; 68 (rein) ; 32 (moelle osseuse et poupon).

TDx® est la marque déposée de Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL 60064.





Spécificité

Substances non interférentes

Les substances suivantes n'interfèrent pas avec la méthode CSA lorsqu'elles sont présentes dans le sang total aux concentrations indiquées. Les imprécisions (biais) dues à ces substances sont inférieures à 10 % pour un taux de CSA de 200 ng/ml [166.5 nmol/l]:

Substance	Concentration du test	Unités SI
Acétaminophène	20 mg/dl	1322 µmol/l
Amikacine	15 mg/dl	256 µmol/l
Sulfate d'amikacine	100 µg/ml	127.9 µmol/l
Amphotéricine B	100 µg/ml	108.2 µmol/l
Ampicilline	5 mg/dl	143 µmol/l
Aprésoline	100 µg/ml	508.7 µmol/l
Acide ascorbique	3 mg/dl	170.3 µmol/l
Azathioprine	100 µg/ml	360.6 µmol/l
Bilirubine	60 mg/dl	1026 µmol/l
Caféine	10 mg/dl	515 µmol/l
Carbamazépine	12 mg/dl	508 µmol/l
Céphalosporine	100 µg/ml	208.9 µmol/l
Chloramphénicol	25 mg/dl	774 µmol/l
Chlorpromazine	5 mg/dl	157 mmol/l
Cholestérol	500 mg/dl	12.9 mmol/l
Cimétidine	10 mg/dl	396 µmol/l
Créatinine	30 mg/dl	2652 µmol/l
Dextran 75	2500 mg/dl	333 µmol/l
Diazépam	2 mg/dl	70 µmol/l
Digoxine	5 ng/ml	6.4 nmol/l
Digitoxine	100 µg/ml	130.7 µmol/l
Dipyridamole	100 µg/ml	198.2 µmol/l
Disopyramide	100 µg/ml	294.6 µmol/l
Érythromycine	20 mg/dl	273 µmol/l
Éthanol	350 mg/dl	76 mmol/l
Éthosuximide	30 mg/dl	2125 µmol/l
FK506 (tacrolimus)	0.1 µg/ml	0.12 µmol/l
Furosémide	2 mg/dl	61 µmol/l
Gentamicine	12 mg/dl	251 µmol/l
Hémoglobine	1000 mg/dl	0.62 mmol/l (monomère)
Héparine	8000 U/l	8000 U/l
Ibuprofène	40 mg/dl	1939 µmol/l
Immunoglobuline G	6 g/dl	60 g/l
Kanamycine A	100 µg/ml	171.6 µmol/l
Sulfate de kanamycine B	100 µg/ml	206.8 µmol/l
Kétoconazole	100 µg/ml	188.2 µmol/l
Lidocaïne	6 mg/dl	256 µmol/l
Lincomycine	100 µg/ml	225.7 µmol/l
Lipémie	1500 mg/dl	16.95 mmol/l (triglycéride)
Lithium	3.5 mg/dl	5.07 mmol/l (chlorure de lithium)
Méthotrexate	100 µg/ml	220 µmol/l
Méthylprednisolone	100 µg/ml	267 µmol/l
Acide mycophénolique	100 µg/ml	312.1 µmol/l
N-acétyl procainamide	100 µg/ml	360.5 µmol/l
Sulfate de néomycine	100 µg/ml	110 µmol/l
Nicotine	2 mg/dl	123 µmol/l
Oxytoxine	100 µg/ml	99.3 µmol/l
Pénicilline G	25 U/ml	25000 U/l
Pentobarbital	10 mg/dl	442 µmol/l
Phénobarbital	15 mg/dl	646 µmol/l
Phénytoïne	10 mg/dl	396 µmol/l
Prazosine	100 µg/ml	238.2 µmol/l
Prednisolone	100 µg/ml	277.5 µmol/l
Prednisone	100 µg/ml	279 µmol/l
Primidone	10 mg/dl	458 µmol/l

Procainamide	100 µg/ml	367.9 µmol/l
Propoxyphène	0.4 mg/dl	12 µmol/l
Propranolol	100 µg/ml	338 µmol/l
Protéine (albumine)	6 g/dl	60 g/l
Protéine (total)	4 g/dl	40 g/l
Protéine (total)	12 g/dl	120 g/l
Quinidine	100 µg/ml	308.3 µmol/l
Rapamycine	0.1 µg/ml	0.11 µmol/l
Facteur rhumatoïde	500 IU/ml	500 IU/ml
Rifampine	100 µg/ml	121.5 µmol/l
Acide salicylique	50 mg/dl	3.62 mmol/l
Spectinomycine	100 µg/ml	246.7 µmol/l
Streptomycine	100 µg/ml	68.6 µmol/l
Théophylline	25 mg/dl	1388 µmol/l
Tobramycine	100 µg/ml	213.9 µmol/l
Tocainide	100 µg/ml	438.6 µmol/l
Triamtérène	100 µg/ml	394.8 µmol/l
Urée	500 mg/dl	83.3 mmol/l
Acide urique	20 mg/dl	1.2 mmol/l
Acide valproïque	50 mg/dl	3467 µmol/l
Vancomycine	100 µg/ml	67.3 µmol/l
Vérapamil	100 µg/ml	203.6 µmol/l

Réactivité croisée

Six métabolites principaux ont été évalués quant à leur réactivité croisée en présence de 200 ng/ml [166.5 nmol/l] de cyclosporine. Le pourcentage de réactivité croisée a été calculé comme suit :

CSA mesurée – CSA de contrôle (200 ng/ml) [166.5 nmol/l]

% de réactivité croisée = $\frac{\text{métabolite ajouté}}{\text{Niveau de métabolite testé ng/ml [nmol/l]}} \times 100$

Métabolite de cyclosporine	Niveau de métabolite testé ng/ml [nmol/l]	% Réactivité croisée
AM1 (M17)	1000 [821]	1.8
AM1c (M18)	1000 [821]	1.1
AM1c9 (M26)	1000 [810]	1.7
AM4N (M21)	1000 [842]	6.0
AM9 (M1)	1000 [821]	2.1
AM19 (M8)	1000 [810]	1.8

Récupération

Des quantités connues de CSA ont été ajoutées à des échantillons de sang total humain à des concentrations de 100, 200, 300 et 400 ng/ml [83.3, 166.5, 249.8, 333.0 nmol/l]. Les concentrations de CSA dans ces échantillons ont ensuite été mesurées et le pourcentage de récupération calculé variait de 93.0 % à 101.4 %, soit une récupération moyenne de 96.6 %.

Valeur obtenue – valeur au départ

Pourcentage de récupération = $\frac{\text{Quantité ajoutée}}{\text{Valeur obtenue – valeur au départ}} \times 100$

Linéarité

L'analyse de la cyclosporine sur le système Dimension® RxL par la méthode Dimension® CSA montre un écart par rapport à la droite estimée inférieur à 10 ng/ml [8.3 nmol/l] pour un intervalle de confiance à 95 % et une concentration analytique de 200 ng/ml [166.5 nmol/l]. La limite inférieure de l'allégation de linéarité est de 25 ng/ml [20.8 nmol/l].

Limite de détection : 25 ng/ml [20.8 nmol/l]

La limite de détection pour la CSA est de 25 ng/ml, déterminée conformément à la directive EP-17A du CLSI, et avec une proportion de faux positifs (α) inférieure à 5 % et une proportion de faux négatifs (β) inférieure à 5 % ; sur la base de 120 dosages, avec 5 échantillons de blanc et 5 échantillons à faible concentration.¹⁵

Sensibilité fonctionnelle : 30 ng/ml [25.0 nmol/l]

La sensibilité fonctionnelle de la CSA a été déterminée en dosant plusieurs échantillons (10 – 70 ng/ml) et en évaluant la précision totale pour ces échantillons. L'étude a été menée sur une période de six semaines, avec 12 jours de test, à raison de 1 série par jour, en analysant séparément les échantillons sur deux instruments avec deux lots de réactifs. Le test comprenait les données provenant de deux étalonnages. Le coefficient de variation entre les dosages a été représenté par régression non linéaire en fonction de la concentration. La sensibilité fonctionnelle (pour un CV de 20 %) était de 30 ng/ml [25.0 nmol/l].

Explication des symboles : Voir le tableau ci-contre.

Bibliographie : Voir le tableau ci-contre.

Dimension®, Flex®, EXL™ et LOCI® sont des marques commerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

©2009 Siemens Healthcare Diagnostics
Tous droits réservés.

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

CSA

Vedere le sezioni ombreggiate: informazioni aggiornate dalla versione 2015-02.

Data di edizione 2019-04-08

Ciclosporina A

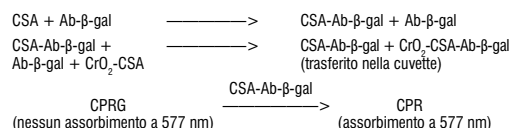
Uso previsto: Il metodo CSA è un test diagnostico *in vitro* finalizzato alla determinazione quantitativa della ciclosporina A (CSA) nel sangue umano intero per il sistema di chimica clinica Dimension®. Le misurazioni della CSA vengono utilizzate come supporto nella gestione dei pazienti sottoposti a trapianto di cuore, fegato e reni.

Riassunto: La ciclosporina è un undecapeptide ciclico di origine fungina, nonché un potente agente immunosoppressivo. Livelli insufficienti di ciclosporina possono causare il rigetto dell'organo trapiantato. Livelli tossici di ciclosporina sono associati a numerosi effetti collaterali gravi quali la nefrotossicità e l'epatotossicità. Il monitoraggio delle concentrazioni di ciclosporina del farmaco primario nel sangue intero e l'interpretazione dei relativi valori contestualmente ad altri dati di laboratorio e considerazioni cliniche rappresentano il metodo più efficace per assicurare una terapia immunosoppressiva adeguata per i riceventi di trapianti di organi solidi.^{1,2,3}

La ciclosporina è ampiamente metabolizzata dal fegato. I livelli di ciclosporina circolante possono essere influenzati da farmaci che agiscono sugli enzimi microsomiali epatici, in particolare sul sistema citocromico P-450. Le sostanze note come inibitori di questi enzimi, come la cimetidina, il ketoconazolo e il metilprednisolone, riducono il metabolismo epatico e aumentano i livelli di ciclosporina. Le sostanze che funzionano da induttori di citocromo P-450, compresa la rifampina, la fenitoina, il fenobarbital e la carbamazepina, aumentano il metabolismo epatico e riducono i livelli di ciclosporina.⁴

Principi del metodo: Il metodo CSA Dimension® automatizzato impiega una tecnica di immunodosaggio in cui le specie anticorpo-enzima libere e legate alla CSA vengono separate mediante particelle magnetiche. Il test viene eseguito utilizzando una cartuccia reagente Flex® specifica per il metodo. La cartuccia Flex® contiene un reagente di pretrattamento, coniugato anticorpo β-galattosidasi-CSA, CSA immobilizzata su particelle di biossido di cromo, substrato di rosso clorofenolo β-d-galattopiranoside (CPRG) e diluente per idratare le compresse.

Per eseguire il test CSA, posizionare una coppetta per campioni contenente il campione di sangue intero da analizzare e una cartuccia reagente CSA Flex® sul sistema Dimension®. Il sistema Dimension® mescola e provoca la lisi del campione di sangue intero. Il campione lisato viene quindi miscelato con il reagente coniugato anticorpo. La CSA presente nel campione viene legata dal reagente coniugato anticorpo CSA. Si aggiungono particelle magnetiche rivestite di ciclosporina A per legare il coniugato anticorpo-enzima libero (non legato). La miscela di reazione viene quindi separata magneticamente. Dopo la separazione, il supernatante contenente il complesso CSA-anticorpo-enzima viene trasferito in un'altra cuvette e miscelato con il substrato. La β-galattosidasi catalizza l'idrolisi del CPRG (rosso clorofenolo β-d-galattopiranoside) producendo CPR (rosso clorofenolo) che assorbe la luce a 577 nm massimo. La variazione dell'assorbanza a 577 nm, dovuta alla formazione del CPR, è direttamente proporzionale alla quantità di CSA nel campione del paziente e viene misurata mediante una tecnica di cinetica bicromatica (577, 700 nm).



Reagenti

Pozzetti ^a	Forma	Componente	Concentrazione ^b	Origine
1,2	Liquida	Ab-β-galattosidasi	c	Murino, monoclonale
3,4	Compressa ^d	CSA-CrO ₂	3.4 mg/compressa	
5,6	Compressa ^d	CPRG	9.3 mg/compressa	
7	Liquida	Diluente substrato		
8	Liquida	Reagente di pretrattamento		

- a. I pozzetti sono numerati consecutivamente a partire dall'estremità larga della cartuccia.
b. Valore nominale per compressa in produzione.
c. La concentrazione dell'anticorpo e l'attività del coniugato variano da un lotto all'altro.
d. Le compresse contengono BSA priva di proteasi, gamma globulina bovina, BSA al 30%, eccipienti, tamponi e stabilizzanti.

Rischio e sicurezza:

H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

Avvertenza!

Può provocare una reazione allergica cutanea.

Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Smaltire il prodotto e il contenitore in conformità con tutte le disposizioni locali, regionali e nazionali.

Contiene: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone; Ossido di cromo.

Le schede di sicurezza sono disponibili sul sito www.siemens.com/diagnostics

Precauzioni: Le cuvette usate contengono liquidi di origine umana; maneggiare con cura per evitarne il contatto con la pelle o l'ingestione.

Per uso diagnostico *in vitro*

Preparazione del reagente: Lo strumento effettua automaticamente l'idratazione, la diluizione e la miscelazione.

Conservare a: 2 – 8 °C

Scadenza: Per la data di scadenza delle singole cartucce reagenti ancora chiuse fare riferimento alla confezione. I pozzetti di cartucce sigillati o non idratati sullo strumento sono stabili per 30 giorni.

Stabilità pozzetto aperto: 3 giorni per i pozzetti da 1 – 6
10 giorni per i pozzetti da 7 – 8

Raccolta e manipolazione dei campioni: Tipi di campioni consigliati: Usare solo campioni di sangue intero in EDTA prelevati seguendo le normali procedure.⁵

Il sangue può essere prelevato utilizzando le procedure consigliate per il prelievo dei campioni diagnostici di sangue mediante venopuntura.⁵

Per l'uso del dispositivo di raccolta dei campioni e l'analisi, seguire le istruzioni fornite col dispositivo.⁶

Per la misurazione della ciclosporina si consiglia un campione basale (trough). Per assicurare una corretta interpretazione dei risultati, annotare l'ora del prelievo di sangue rispetto alla somministrazione dell'ultima dose di ciclosporina.

Prima dell'uso, miscelare bene i campioni appena raccolti, congelati e scongelati per consentire l'equilibratura e la distribuzione uniforme della ciclosporina nel sangue intero.⁷

Non utilizzare campioni contenenti materiale corpuscolato e coaguli.

I campioni di sangue intero sono stabili per 7 giorni a temperatura ambiente.⁸ I campioni di sangue intero possono essere congelati a 2-8 °C per un massimo di 7 giorni. Per una conservazione più prolungata congelare i campioni a -20 °C.⁹

Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento.

Procedura

Materiale fornito

Cartuccia reagente CSA Flex®, Num. cat. DF89A

Materiale necessario ma non fornito

Detergente per sonda campione, Num. cat. RD703
Detergente per sonda reagente, Num. cat. RD702
Calibratore CSA, Num. cat. DC89
Recipienti di reazione (necessari solo per HM), Num. cat. RXV1A
Materiali di controllo qualità

Fasi del test

Il sistema Dimension® effettua automaticamente il campionamento, l'erogazione del reagente, la miscelazione, la separazione, il processo di analisi e la stampa dei risultati con modulo immunodosaggio eterogeneo.

- Miscelare delicatamente ma uniformemente tutti i calibratori, i controlli e i campioni immediatamente prima dell'uso. Miscelare manualmente o su un inverter o agitatore basculante. **NON VORTEXARE.**
- Trasferire **200 µl** in una coppetta per campioni per l'analisi sul sistema Dimension®. Il campione deve essere analizzato entro 30 minuti dal momento in cui viene posizionato nella ruota porta campioni.
- Non analizzare provette primarie direttamente sul sistema Dimension® per questo metodo.**

Per ulteriori informazioni, fare riferimento alla Guida per l'operatore di Dimension®.

Condizioni del test

Recipiente di reazione

Reagente di pretrattamento 70 µl
Volume di campione 5 µl
Anticorpo-β-galattosidasi 50 µl
CSA - CrO₂ 50 µl
Temperatura di incubazione 42 °C*

*Dimension® EXL™ con modulo LOCI®: 37 °C

Cuvette di reazione

Volume trasferimento 54 µl
Volume di reagente CPRG 150 µl
Volume del diluente 191 µl
Temperatura 37.0 °C
Lunghezza d'onda 577 e 700 nm
Tipo di misurazione Cinetica bicromatica

Calibrazione	
Intervallo di misura	25 – 500 ng/ml [20.8 – 416.3 nmol/l] ^a
Materiale di calibrazione	Calibratore CSA, Num. cat. DC89
Schema di calibrazione	5 livelli, quattro al livello 1, tre al livello 2, due al livello 3 e tre ai livelli 4 e 5.
Unità	ng/ml [nmol/l] (ng/ml x 0.832) = [nmol/l]
Livelli di calibrazione tipici	0, 100, 200, 350, 500 ng/ml [0.0, 83.2, 166.4, 291.2, 416.0 nmol/l]
Frequenza di calibrazione	Ogni 30 giorni per ciascun lotto
Occorre effettuare una nuova calibrazione	- Per ogni nuovo lotto di cartucce reagenti Flex® - In seguito a manutenzione o riparazione importante, se indicato dai risultati del controllo qualità - Se indicato nelle procedure del controllo qualità del laboratorio - Quando richiesto in base alle normative in vigore
Coefficienti assegnati	C ₀ 41.9
	C ₁ 746
	C ₂ -2.25
	C ₃ 562
	C ₄ 0.5

e. Le unità SI [Système International d'Unités] sono tra parentesi.

Controllo qualità

Almeno una volta per ogni giorno di utilizzo, analizzare due livelli di un materiale di controllo qualità (CQ) con concentrazioni note di ciclosporina. Seguire le procedure di controllo qualità interne del laboratorio se i risultati ottenuti non rientrano nei limiti accettabili.

Risultati: Lo strumento calcola e stampa automaticamente la concentrazione di CSA in ng/ml [nmol/l] utilizzando lo schema di calcolo illustrato nella Guida per l'operatore di Dimension®.

I risultati di questo test devono essere sempre interpretati alla luce della anamnesi del paziente, della presentazione clinica e valutando contestualmente l'esito di altri accertamenti.

Intervallo di misura analitica (AMR): 25 – 500 ng/ml [20.8 – 416.3 nmol/l]

È l'intervallo dei valori di analita che è possibile misurare direttamente dal campione senza alcuna diluizione o pretrattamento che non sia parte integrante del processo di analisi abituale e sia equivalente all'intervallo di misura.

I campioni con risultati superiori a 500 ng/ml [416.3 nmol/l] devono essere refertati come "Oltre l'intervallo di misurazione" e quindi analizzati con il metodo CSAE (DF108) che fornisce valori quantitativi per CSA compresi tra 350 e 2000 ng/ml [291.7 – 1666.7] o diluiti e rianalizzati.

Diluizione manuale: Diluire 1:4 [1 parte di sangue intero e 3 parti di Calibratore CSA di livello 1 (0 ng/ml) Dimension® per ottenere una stima della concentrazione di ciclosporina. Inserire il fattore di diluizione (4). Ripetere l'analisi. La lettura che ne risulta è quella corretta per la diluizione.
Se il risultato CSA della diluizione manuale 1:4 del campione è ancora "Oltre l'intervallo di misurazione o Intervallo di misurazione", il risultato CSA deve essere refertato come "maggiore di 2000 ng/ml [1664.0 nmol/l]".

Autodiluizione (AD): Non disponibile per i metodi con sangue intero.

I campioni con risultati inferiori a 25 ng/ml [20.8 nmol/l] devono essere refertati come "inferiore a 25 ng/ml [20.8 nmol/l]".

Limitazioni della procedura

I campioni dei pazienti potrebbero contenere anticorpi eterofili potenzialmente in grado di reagire negli immunodosaggi fornendo risultati falsamente elevati o bassi. Questo test è stato sviluppato per ridurre al minimo l'interferenza da parte degli anticorpi eterofili. Ciononostante, non è possibile garantire la completa eliminazione di tale interferenza da tutti i campioni dei pazienti. Eventuali risultati incompatibili con il quadro clinico e l'anamnesi del paziente devono essere interpretati con cautela.^{10,11}

Questo test è stato sviluppato anche per ridurre al minimo l'interferenza da parte degli anticorpi anti-β-galattosidasi. Questi anticorpi possono essere presenti nei campioni in conseguenza di un'infezione batterica e possono produrre risultati falsamente elevati potenzialmente contrastanti con la valutazione clinica. In casi rarissimi, gli immunodosaggi possono produrre risultati falsamente elevati o ridotti a causa di altre sostanze interferenti specifiche per il paziente.¹²

Nei pazienti con funzionalità epatica compromessa e nei pazienti ai quali vengono somministrati altri farmaci che potrebbero indurre o inibire l'attività enzimatica microsomale, l'utilizzo di routine dell'analisi con test Dimension® della ciclosporina nel sangue intero potrebbe essere supportato da dati HPLC per valutare possibili variazioni di biotrasformazione ed eliminazione.

Il sistema di refertazione dello strumento include messaggi di errore che avvertono l'operatore della presenza di guasti specifici. Tutti i fogli di referto che contengono tali messaggi di errore devono essere conservati per il follow-up. Fare riferimento alla Guida per l'operatore di Dimension®.

La seguente precisione con 5 test indica la possibilità di un cattivo funzionamento del sistema:

Concentrazione	SD
200 ng/ml [166.4 nmol/l]	> 20.4 ng/ml [17.0 nmol/l]
350 ng/ml [291.2 nmol/l]	> 35.2 ng/ml [29.3 nmol/l]

NOTA: per eseguire un controllo della precisione con 5 test, pipettare 300 µl di Calibratore CSA di livello 3 e 4 in coppette per campioni separate. Richiedere cinque ripetizioni delle misurazioni CSA per ogni livello di calibratore. Valutare la deviazione standard ottenuta per ogni livello utilizzando le linee guida riportate sopra.

Valori attesi

ATTENZIONE: Non esiste un intervallo terapeutico universalmente stabilito per la ciclosporina nel sangue intero. I valori ottenuti con metodi di test diversi non sono intercambiabili a causa di differenze a livello di metodi di test e specificità dei reagenti.

I singoli valori di ciclosporina non possono essere utilizzati come unico indicatore sulla base del quale apportare modifiche ai trattamenti. Ogni paziente deve essere oggetto di una valutazione clinica complessiva prima di apportare modifiche ai trattamenti e ogni utente deve stabilire i propri intervalli basati su tali esperienze cliniche. A causa della variabilità dei modelli di cross-reattività con i metaboliti, si consiglia l'uso costante di un unico test per ogni singolo paziente. Non utilizzare i fattori di conversione ottenuti dalla comparazione dei metodi di test per predire i valori dei singoli pazienti.

La complessità dello stato clinico, le singole differenze di sensibilità agli effetti immunosoppressivi e nefrotossici della ciclosporina, la co-somministrazione di altri immunosoppressivi, il tipo di trapianto, il decorso post-trapianto e numerosi altri fattori concorrono a formare i requisiti necessari per stabilire il livello ottimale di ciclosporina nel sangue.¹³

Caratteristiche specifiche di prestazione^l

I dati riportati di seguito illustrano le caratteristiche di prestazione tipiche del sistema Dimension®.

Materiale	Precisione ^{a,h}		
	Deviazione standard (% CV)		Totale
	Media	Intra-serie	
	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]	ng/ml [nmol/l]
CQ livello 1*	65 [54.1]	3.4 [2.8] (5.2)	5.3 [4.4] (8.2)
CQ livello 2	151 [125.6]	6.5 [5.4] (4.3)	8.1 [6.7] (5.4)
CQ livello 3	400 [332.8]	17.3 [14.4] (4.3)	19.0 [15.8] (4.8)
Pool di sangue intero-1**	83 [69.1]	4.9 [4.1] (5.9)	6.0 [5.0] (7.3)
Pool di sangue intero-2	132 [109.8]	5.5 [4.6] (4.2)	8.1 [6.7] (6.2)
Pool di sangue intero-3	219 [182.2]	7.7 [6.4] (3.5)	9.5 [7.9] (4.3)
Pool di sangue intero-4	369 [307.0]	13.5 [11.2] (3.6)	14.4 [12.0] (3.9)

*Controlli immunosoppressori Tac/CSA More Diagnostics, More Diagnostics Inc, Los Osos, CA 93402.

**Pool di sangue intero (1,2,3) preparato da sangue intero EDTA e gravimetricamente integrato con ciclosporina ai livelli riportati sopra.

f. Tutti i test delle caratteristiche specifiche di prestazione sono stati condotti dopo aver eseguito le normali verifiche di controllo qualità dell'apparecchiatura. Fare riferimento alla Guida per l'operatore del sistema Dimension®.

g. Il test della riproducibilità è stato eseguito in conformità alle linee guida di valutazione per la precisione delle prestazioni dei dispositivi di chimica clinica (Approved Guideline for Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices, EP5-A2, 2004) approvate dal NCCLS.

h. I campioni di ogni livello sono stati analizzati in duplicato una volta al giorno per 20 giorni. Le deviazioni standard intra-serie e totali sono state calcolate con il metodo dell'analisi della varianza.

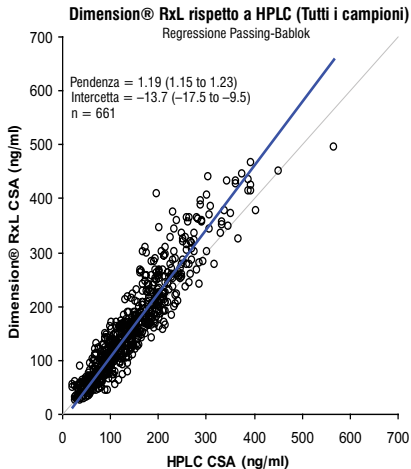
Comparazione dei metodi Statistiche di regressione ^l				
Metodo comparativo	Pendenza	Intercetta ng/ml [nmol/l]	Coefficiente di correlazione	n ^l
Abbott TDX®				
Tutti	0.83	-21.3 [-17.7]	0.957	667
Cuore	0.83	-20.9 [-17.4]	0.927	111
Fegato	0.82	-26.3 [-21.9]	0.952	201
Rene	0.83	-18.8 [-15.6]	0.966	279
HPLC				
Tutti	1.19	-13.7 [-11.4]	0.935	661
Cuore	1.28	-16.0 [-13.3]	0.893	111
Fegato	1.18	-13.3 [-11.1]	0.961	201
Rene	1.13	-8.9 [-7.4]	0.920	273

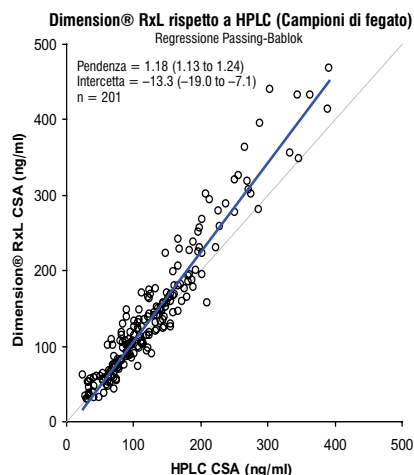
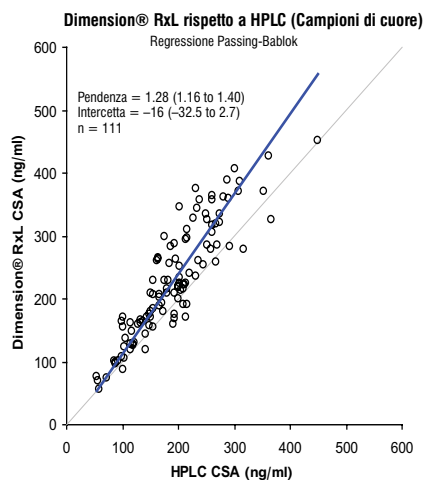
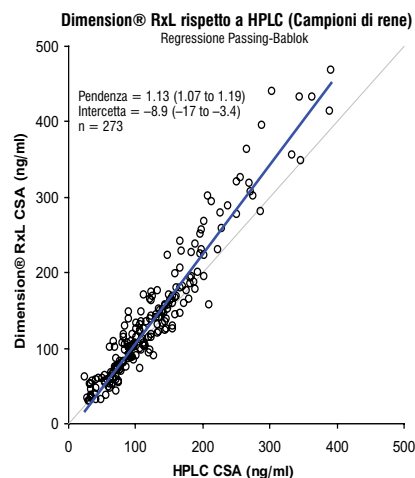
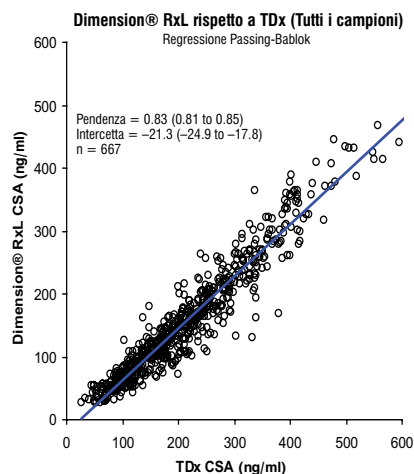
i. Per l'adattamento della linea di regressione lineare è stato utilizzato il metodo Passing-Bablok¹⁴. L'equazione del modello per le statistiche di regressione è: Risultato del sistema Dimension® = (pendenza x risultato del metodo comparativo) + intercetta.

Nota: la regressione del metodo Dimension® CSA (y) rispetto a HPLC (x) è stata eseguita mediante il metodo di regressione dei minimi quadrati ordinari. L'errore di regressione della stima (sy/x) è stato 32.3 ng/ml [26.9 nmol/l] (TUTTI); 40.5 ng/ml [33.7 nmol/l] (CUORE); 24.7 ng/ml [20.6 nmol/l] (FEGATO); 25.4 ng/ml [21.1 nmol/l] (RENE).

j. Nello studio di correlazione, l'intervallo dei valori della CSA è stato 27.3 – 494.3 ng/ml [22.7 – 411.6 nmol/l]. Il numero di singoli pazienti (adulti, di età compresa tra i 23 e i 76 anni), rappresentato nella comparazione dei metodi riportata sopra per ogni gruppo di trapianto d'organi è: 36 (Cuore); 44 (Fegato); 68 (Rene); 32 (Midollo osseo e Polmone).

TDX® è un marchio registrato di Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL 60064.





Specificità

Sostanze non interferenti

Le seguenti sostanze non interferiscono con il metodo CSA, se presenti nel sangue intero nelle concentrazioni indicate. Le imprecisioni (bias) dovute a queste sostanze sono inferiori al 10% a un livello di CSA di 200 ng/ml [166.5 nmol/l].

Sostanza	Concentrazione del test	Unità S.I.
Acetaminofene	20 mg/dl	1322 µmol/l
Amikacina	15 mg/dl	256 µmol/l
Amikacina solfato	100 µg/ml	127.9 µmol/l
Amfotericina B	100 µg/ml	108.2 µmol/l
Ampicillina	5 mg/dl	143 µmol/l
Apresolina	100 µg/ml	508.7 µmol/l
Acido ascorbico	3 mg/dl	170.3 µmol/l
Azatioprina	100 µg/ml	360.6 µmol/l
Bilirubina	60 mg/dl	1026 µmol/l
Caffeina	10 mg/dl	515 µmol/l
Carbamazepina	12 mg/dl	508 µmol/l
Cefalosporina	100 µg/ml	208.9 µmol/l
Cloramfenicolo	25 mg/dl	774 µmol/l
Clorpromazina	5 mg/dl	157 mmol/l
Colesterolo	500 mg/dl	12.9 mmol/l
Cimetidina	10 mg/dl	396 µmol/l
Creatinina	30 mg/dl	2652 µmol/l
Destrano 75	2500 mg/dl	333 µmol/l
Diazepam	2 mg/dl	70 µmol/l
Digossina	5 ng/ml	6.4 nmol/l
Digitossina	100 µg/ml	130.7 µmol/l
Dipiridamolo	100 µg/ml	198.2 µmol/l
Disopiramide	100 µg/ml	294.6 µmol/l
Eritromicina	20 mg/dl	273 µmol/l
Etanolo	350 mg/dl	76 mmol/l
Etosuccimide	30 mg/dl	2125 µmol/l
FK506 (Tacrolimus)	0.1 µg/ml	0.12 µmol/l
Furosemide	2 mg/dl	61 µmol/l
Gentamicina	12 mg/dl	251 µmol/l
Emoglobina	1000 mg/dl	0.62 mmol/l (monomero)
Eparina	8000 U/l	8000 U/l
Ibuprofene	40 mg/dl	1939 µmol/l
Immunoglobulina G	6 g/dl	60 g/l
Kanamicina A	100 µg/ml	171.6 µmol/l
Kanamicina solfato B	100 µg/ml	206.8 µmol/l
Ketoconazolo	100 µg/ml	188.2 µmol/l
Lidocaina	6 mg/dl	256 µmol/l
Lincomicina	100 µg/ml	225.7 µmol/l
Lipemia	1500 mg/dl	16.95 mmol/l (trigliceridi)
Litio	3.5 mg/dl	5.07 mmol/l (cloruro di litio)
Metotrexato	100 µg/ml	220 µmol/l
Metilprednisolone	100 µg/ml	267 µmol/l
Acido micofenolico	100 µg/ml	312.1 µmol/l
N-acetil-procainamide	100 µg/ml	360.5 µmol/l
Neomicina solfato	100 µg/ml	110 µmol/l
Nicotina	2 mg/dl	123 µmol/l
Ossitocina	100 µg/ml	99.3 µmol/l
Penicillina G	25 U/ml	25000 U/l
Pentobarbital	10 mg/dl	442 µmol/l
Fenobarbital	15 mg/dl	646 µmol/l
Fenitoina	10 mg/dl	396 µmol/l
Prazosina	100 µg/ml	238.2 µmol/l
Prednisolone	100 µg/ml	277.5 µmol/l
Prednisone	100 µg/ml	279 µmol/l
Primidone	10 mg/dl	458 µmol/l

Procainamide	100 µg/ml	367.9 µmol/l
Propossifene	0.4 mg/dl	12 µmol/l
Propranololo	100 µg/ml	338 µmol/l
Proteine (Albumina)	6 g/dl	60 g/l
Proteine (Totali)	4 g/dl	40 g/l
Proteine (Totali)	12 g/dl	120 g/l
Chinidina	100 µg/ml	308.3 µmol/l
Rapamicina	0.1 µg/ml	0.11 µmol/l
Fattore reumatoide	500 IU/ml	500 IU/ml
Rifampina	100 µg/ml	121.5 µmol/l
Acido salicilico	50 mg/dl	3.62 mmol/l
Spectinomycin	100 µg/ml	246.7 µmol/l
Streptomycin	100 µg/ml	68.6 µmol/l
Teofillina	25 mg/dl	1388 µmol/l
Tobramicina	100 µg/ml	213.9 µmol/l
Tocainide	100 µg/ml	438.6 µmol/l
Triamterene	100 µg/ml	394.8 µmol/l
Urea	500 mg/dl	83.3 mmol/l
Acido urico	20 mg/dl	1.2 mmol/l
Acido valproico	50 mg/dl	3467 µmol/l
Vancomicina	100 µg/ml	67.3 µmol/l
Verapamil	100 µg/ml	203.6 µmol/l

Cross-reattività

Ai fini della cross-reattività sono stati valutati sei metaboliti principali in presenza di 200 ng/ml [166.5 nmol/l] di ciclosporina. La percentuale di cross-reattività è stata calcolata come segue:

$$\% \text{ cross-reattività} = \frac{\text{CSA misurata} - \text{CSA di controllo (200 ng/ml) [166.5 nmol/l]}}{\text{metabolita aggiunto}} \times 100$$

Metabolita ciclosporina	Livello metabolita analizzato ng/ml [nmol/l]	% cross-reattività
AM1 (M17)	1000 [821]	1.8
AM1c (M18)	1000 [821]	1.1
AM1c9 (M26)	1000 [810]	1.7
AM4N (M21)	1000 [842]	6.0
AM9 (M1)	1000 [821]	2.1
AM19 (M8)	1000 [810]	1.8

Recupero

Sono state aggiunte quantità note di CSA a campioni di sangue umano intero con concentrazioni pari a 100, 200, 300 e 400 ng/ml [83.3, 166.5, 249.8 e 333.0 nmol/l]. Sono state quindi misurate le concentrazioni di CSA in questi campioni e le percentuali di recupero calcolate sono risultate comprese fra il 93.0% e il 101.4%, con un recupero medio del 96.6%.

$$\text{Percentuale di recupero} = \frac{\text{Valore ottenuto} - \text{Linea di base}}{\text{Quantità aggiunta}} \times 100$$

Linearità

L'analisi della ciclosporina sul sistema Dimension® RxL mediante il metodo CSA Dimension® mostra una deviazione rispetto alla linea stimata inferiore a 10 ng/ml [8.3 nmol/l] con il 95% di confidenza alla concentrazione analitica di 200 ng/ml [166.5 nmol/l]. Il limite inferiore dell'intervallo di linearità è 25 ng/ml [20.8 nmol/l].

Limite di rilevazione: 25 ng/ml [20.8 nmol/l]

Il limite di rilevazione per la CSA è pari a 25 ng/ml, determinato in conformità alle linee guida di valutazione approvate dal CLSI (EP-17A) e con proporzioni di falsi positivi (α) inferiori al 5% e falsi negativi (β) inferiori al 5%, basato su 120 determinazioni, con 5 campioni bianchi e 5 campioni a basso livello.¹⁵

Sensibilità funzionale: 30 ng/ml [25.0 nmol/l]

La sensibilità funzionale della CSA è stata determinata analizzando molteplici campioni (10 – 70 ng/ml) e valutandone la precisione totale. Lo studio è stato condotto nell'arco di un periodo di sei settimane, con 12 giorni di test, 1 serie al giorno con campioni analizzati singolarmente su due strumenti con due lotti di reagenti. Il test comprendeva dati provenienti da due calibrazioni. Il coefficiente di variazione inter-test è stato tracciato mediante la regressione non lineare rispetto alla concentrazione. La sensibilità funzionale (CV 20%) è risultata di 30 ng/ml [25.0 nmol/l].

Interpretazione simboli: Vedere la sezione aggiunta.

Bibliografia: Vedere la sezione aggiunta.

Dimension®, Flex®, EXL™ e LOCI® sono marchi di Siemens Healthcare Diagnostics.

©2009 Siemens Healthcare Diagnostics
Tutti i diritti riservati.

Dimension® clinical chemistry system

Flex® reagent cartridge

CSA

Consulte las secciones sombreadas: Información actualizada desde la versión de 2015-02.

Fecha de la edición 2019-04-08

Ciclosporina A

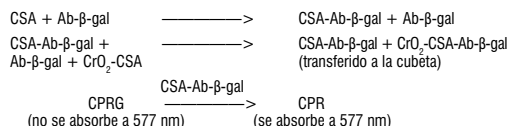
Uso previsto: El método CSA es una prueba de diagnóstico *in vitro* para la determinación cuantitativa de la ciclosporina A (CSA) en la sangre completa humana para el sistema de química clínica Dimension®. Las mediciones de CSA se utilizan en pacientes con trasplante de riñón, hígado o corazón.

Resumen: La ciclosporina es un undecapéptido cíclico de origen fúngico y un potente inmunodepresor. Si se administran niveles de ciclosporina inadecuados se puede producir el rechazo del órgano trasplantado. Los niveles tóxicos de ciclosporina se asocian a varios efectos secundarios entre los que se incluye la nefrotoxicidad y la hepatotoxicidad. El control de las concentraciones de ciclosporina en sangre completa y la interpretación de estos valores junto con otros datos de laboratorio y consideraciones clínicas es el medio más eficaz de garantizar un tratamiento inmunodepresor adecuado para los pacientes a los que se les realizan trasplantes de órganos.^{1,2,3}

El hígado metaboliza la ciclosporina exhaustivamente. Los niveles de ciclosporina circulante pueden verse influenciados por los fármacos que afectan a las enzimas hepáticas microsomales, en particular el sistema citocromo P-450. Las sustancias que inhiben estas enzimas, como la cimetidina, el ketoconazol y la metilprednisolona, reducirán el metabolismo hepático y aumentarán los niveles de ciclosporina. Las sustancias inductoras de la actividad del citocromo P-450, incluyendo la rifampina, fenitoína, fenobarbital y carbamazepina, aumentarán el metabolismo hepático y reducirán los niveles de ciclosporina.⁴

Principios del procedimiento: El método CSA de Dimension® automatizado utiliza una técnica de inmunoensayo donde se separan las especies de anticuerpo-enzima unidas a CSA y libres utilizando partículas magnéticas. El análisis se realiza utilizando un cartucho de reactivos Flex® específico del método. El cartucho Flex® contiene un reactivo de pretratamiento, β-galactosidasa-conjugado del anticuerpo CSA, CSA inmovilizada en partículas de dióxido de cromo, sustrato clorofenol rojo β-d-galactopiranosido (CPRG), y diluyente para hidratar las tabletas.

Para realizar una prueba CSA, se colocan adecuadamente una copa con la muestra de sangre completa y un cartucho de reactivos Flex® de CSA en el sistema Dimension®. El sistema Dimension® mezcla y lisa la muestra de sangre completa. La muestra lisada se mezcla con el reactivo conjugado del anticuerpo. La CSA presente en la muestra se une al reactivo conjugado del anticuerpo CSA. Las partículas magnéticas recubiertas con ciclosporina A se añaden para unirse al conjugado anticuerpo-enzima libre (no fijado). La mezcla de la reacción se separa magnéticamente. Tras la separación, el sobrenadante que contiene el complejo CSA-enzima-anticuerpo se transfiere a otra cubeta y se mezcla con el sustrato. La β-galactosidasa cataliza la hidrólisis de CPRG (clorofenol rojo β-d-galactopiranosido) para producir CPR (clorofenol rojo) que absorbe un máximo de luz a 577 nm. El cambio de la absorbancia a 577 nm, debido a la formación de CPR, es directamente proporcional a la cantidad de CSA en la muestra del paciente y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (577, 700 nm).



Reactivos

Pocillos ^a	Forma	Ingrediente	Concentración ^b	Origen
1,2	Líquido	Anticuerpo-β-galactosidasa	c	Ratón, monoclonal
3,4	Comprimido ^d	CSA-CrO ₂	3.4 mg/tab	
5,6	Comprimido ^d	CPRG	9.3 mg/tab	
7	Líquido	Diluyente de sustrato		
8	Líquido	Reactivo de pretratamiento		

a. Los pocillos están numerados consecutivamente desde el extremo ancho del cartucho.

b. Valor nominal por comprimido en el momento de la fabricación.

c. La concentración de anticuerpos y la actividad del conjugado varían de lote a lote.

d. Los comprimidos contienen BSA libre de proteasa, gammaglobulina bovina, 30% BSA, excipientes, tampones y estabilizantes.

Riesgos y seguridad:

H317
P280, P272, P302 + P352, P333 + P313, P501

¡Advertencia!

Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Eliminar el contenido y el recipiente de acuerdo con las normativas locales, regionales y nacionales.

Contiene: 5-chloro-2-methyl-3(2h)-isothiazolone mixture with 2-methyl-3(2h)-isothiazolone; Óxido de cromo.

Precauciones: Las cubetas usadas contienen fluidos corporales de origen humano; manipular con el cuidado apropiado para evitar el contacto con la piel o la ingestión.

Para uso diagnóstico *in vitro*

Preparación del reactivo: El instrumento realiza la hidratación, la dilución y la mezcla automáticamente.

Conservar a: 2 – 8 °C

Caducidad: Consulte en el envase la fecha de caducidad de los cartuchos de reactivos individuales sin abrir. En el instrumento, los pocillos sellados o no hidratados son estables durante 30 días.

Estabilidad de los pocillos abiertos: 3 días para los pocillos 1 – 6
10 días para los pocillos 7 – 8

Recogida de muestras y manipulación: Tipos de muestras recomendadas: Se deberá utilizar solamente sangre completa en EDTA que se recogerá mediante los procedimientos normales.⁵

La sangre puede obtenerse utilizando los procedimientos recomendados para la obtención de muestras de sangre para diagnóstico mediante venopunción.⁵

Siga las instrucciones de uso y procesamiento suministradas con el dispositivo de recogida de muestras.⁶

Se recomienda utilizar una muestra mínima para medir la ciclosporina. A fin de garantizar una correcta interpretación de los resultados, se deberá anotar la hora de extracción de la sangre relacionada con la última dosis de ciclosporina.

Para conseguir un equilibrio y una distribución uniforme de la ciclosporina en toda la sangre, se deberán mezclar las muestras descongeladas, las muestras recién recogidas y las muestras refrigeradas antes de ser utilizadas.⁷

No se deberán utilizar las muestras con coágulos y partículas.

Las muestras de sangre completa permanecen estables durante 7 días a temperaturas ambiente.⁸ Las muestras de sangre completa se pueden refrigerar a 2 – 8 °C durante 7 días. Para conservar las muestras durante períodos más prolongados, deberá congelarlas a -20 °C.⁹

Evite congelar y descongelar las muestras varias veces.

Procedimiento

Materiales suministrados

Cartucho de reactivos Flex® de CSA, ref. DF89A

Materiales necesarios pero no suministrados

Limpiador de probeta de muestra, ref. RD703
Limpiador de probeta de reactivo, ref. RD702
Calibrador de CSA, ref. DC89
Vasos de reacción (sólo requeridos para HM), ref. RXV1A
Materiales de control de calidad

Proceso del análisis

El sistema Dimension® con el módulo de inmunoensayo heterogéneo realiza automáticamente el muestreo, la dispensación de reactivos, la mezcla, la separación, el procesamiento y la impresión de los resultados.

- Mezcle con cuidado pero exhaustivamente todos los calibradores, controles y muestras justo antes de su uso. Hágalo a mano o con la ayuda de un basculador o un agitador. **NO AGITAR EN VÓRTEX.**
- Transfiera **200 µL** a una copa de muestras para que se procese en el sistema Dimension®. La muestra debe procesarse en un plazo de 30 minutos una vez colocada en la rueda de muestreo.
- No procese los tubos principales directamente en el sistema Dimension® para este método.**

Para más detalles sobre este proceso, consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.

Condiciones del análisis

Vaso de reacción

Reactivo de pretratamiento	70 µL
Volumen de muestra	5 µL
Anticuerpo-β-galactosidasa	50 µL
CSA - CrO ₂	50 µL
Temperatura de incubación	42 °C*

*Dimension® EXL™ con módulo LOCI®: 37 °C

Cubeta de reacción

Volumen de transferencia	54 µL
Volumen de reactivo CPRG	150 µL
Volumen de diluyente	191 µL
Temperatura	37.0 °C
Longitud de onda	577 y 700 nm
Tipo de medición	tasa biocromática

Las fichas de datos de seguridad (MSDS/SDS) están disponibles en www.siemens.com/diagnostics

Calibración	
Intervalo de ensayo	25 – 500 ng/mL [20.8 – 416.3 nmol/L] ^a
Material de calibración	Calibrador de CSA, ref. DC89
Esquema de calibración	5 niveles, cuatro @ nivel 1, tres @ nivel 2, dos @ nivel 3, y tres @ niveles 4 y 5.
Unidades	ng/mL [nmol/L] (ng/mL x 0.832) = [nmol/L]
Niveles habituales de calibración	0, 100, 200, 350, 500 ng/mL [0.0, 83.2, 166.4, 291.2, 416.0 nmol/L]
Frecuencia de calibración	Cada 30 días para cualquier lote
Se requiere una nueva calibración	- Para cada lote nuevo de cartuchos de reactivos Flex®. - Después de la realización de importantes tareas de mantenimiento o servicio, si los resultados de control de calidad así lo indican. - Tal como se indica en los procedimientos de control de calidad del laboratorio - Cuando es obligatorio según las reglamentaciones gubernamentales
Coefficientes asignados	C ₀ 41.9 C ₁ 746 C ₂ -2.25 C ₃ 562 C ₄ 0.5

e. Las unidades del Sistema Internacional de Unidades [unidades SI] se indican entre corchetes.

Control de calidad	
Al menos una vez por día de uso, analice dos niveles de un material de control de calidad (CC) con concentraciones conocidas de ciclosporina. Siga los procedimientos internos de CC de su laboratorio si los resultados obtenidos no se encuentran dentro de los límites aceptables.	
Resultados: El instrumento calcula e imprime automáticamente la concentración de CSA en ng/mL [nmol/L] según el esquema de cálculo ilustrado en el Manual del usuario del sistema Dimension®.	
Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con la historia clínica del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.	
Rango de medición analítico (AMR): 25 – 500 ng/mL [20.8 – 416.3 nmol/L]	
Se trata del rango de valores de analito que puede medirse directamente de la muestra sin requerir dilución ni tratamiento previo que no sea parte del proceso analítico habitual y que sea equivalente al intervalo del ensayo.	
Las muestras con resultados que superen los 500 ng/mL [416.3 nmol/L] se informarán como “Superiores al intervalo de ensayo” y deben analizarse según el método CSAE (DF108), que proporciona valores cuantitativos para CSA desde 350 – 2000 ng/mL [291.7 – 1666.7], o bien deben repetirse con dilución.	
Dilución manual: Diluya 1:4 [1 parte de sangre completa y 3 partes de Dimension® Nivel 1 (0 ng/mL), Calibrador de CSA] para obtener una estimación de la concentración de ciclosporina. Introduzca el factor de dilución (4). Repita el análisis. La lectura resultante se corregirá en función de la dilución.	
Si el resultado de CSA de 1:4 diluido manualmente sigue apareciendo marcado como “Superior al intervalo del ensayo o Intervalo de ensayo”, el resultado de CSA se deberá informar como “superior a 2000 ng/mL [1664.0 nmol/L].”	

Autodilución (AD): No está disponible para los métodos de sangre completa.
Los resultados inferiores a 25 ng/mL [20.8 nmol/L] deben considerarse como “inferiores a 25 ng/mL [20.8 nmol/L].”

Limitaciones del procedimiento	
Las muestras de paciente pueden contener anticuerpos heterófilos que podrían reaccionar en los inmunoensayos y dar resultados falsamente elevados o reducidos. Este análisis se ha diseñado para reducir al mínimo la interferencia causada por anticuerpos heterófilos. Sin embargo, no es posible garantizar la completa eliminación de esta interferencia de todas las muestras de paciente. Si un resultado de la prueba se contradice con el cuadro clínico y la historia del paciente, deberá interpretarse con precaución. ^{10,11}	
Este análisis se ha diseñado para reducir al mínimo la interferencia causada por anticuerpos anti β-galactosidasa. Estos anticuerpos se pueden encontrar en las muestras como consecuencia de infecciones bacterianas y pueden producir falsos resultados elevados incoherentes con la evaluación clínica. En algunos casos poco frecuentes, los inmunoensayos pueden producir resultados falsamente incrementados o reducidos debido a interferentes específicos del paciente. ¹²	
En pacientes con insuficiencia hepática o en pacientes que reciben otros fármacos que puedan inducir o inhibir la actividad enzimática microsomal, el uso rutinario del análisis de sangre completa de ciclosporina del sistema Dimension® puede ser respaldado por los datos HPLC para evaluar los posibles cambios en la biotransformación y la eliminación.	
El sistema de informes del instrumento contiene mensajes de error para avisar al usuario de fallos específicos de funcionamiento. Cualquier informe con dichos mensajes de error debe ser conservado para seguimiento. Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.	
Existe la posibilidad de un funcionamiento incorrecto del sistema si se obtiene la siguiente precisión en 5 pruebas consecutivas:	
Concentración	DE
200 ng/mL [166.4 nmol/L]	> 20.4 ng/mL [17.0 nmol/L]
350 ng/mL [291.2 nmol/L]	> 35.2 ng/mL [29.3 nmol/L]

NOTA: Para realizar una comprobación de precisión en 5 pruebas consecutivas, pipetee 300 µL de niveles 3 y 4 de calibradores de CSA en copas de muestras diferentes. Para cada nivel de calibrador se requerirán 5 duplicados de las mediciones de CSA. Evalúe la DE obtenida para cada nivel según las pautas anteriores.

Valores esperados	
PRECAUCIÓN: No existe un intervalo terapéutico universalmente definido para la ciclosporina en sangre completa. Los valores obtenidos con los diferentes métodos de ensayo no se pueden intercambiar debido a las diferencias en los métodos de prueba y la especificidad de los reactivos.	
Los valores de ciclosporina individuales no se podrán utilizar como indicadores únicos para modificar el régimen del tratamiento. Cada uno de los pacientes deberá ser sometido a una evaluación clínica exhaustiva antes de que se realicen los ajustes y cada usuario deberá definir su propio intervalo en función de estas experiencias clínicas. Debido a la variación de los modelos de reactividad cruzada con metabolitos, se recomienda el uso sistemático de un ensayo para los pacientes individuales. Los factores de conversión obtenidos a partir de las comparaciones de los métodos de análisis no se deberían utilizar para predecir los valores correspondientes a los pacientes individuales.	

La complejidad del estado clínico, las diferencias entre pacientes en cuanto a la sensibilidad inmunodepresora y los efectos nefrotóxicos de la ciclosporina, la administración conjunta de otros inmunodepresores, el tipo de trasplante, el tiempo posterior al trasplante y otros factores, hacen que varíen las concentraciones óptimas de ciclosporina en sangre necesarias.¹³

Características específicas de funcionamiento ^f			
Los siguientes datos representan el rendimiento típico del sistema Dimension®.			
Precisión ^{a,h}			
Material	Media ng/mL [nmol/L]	Desviación estándar (%CV)	
		Intra-ensayo ng/mL [nmol/L]	Total ng/mL [nmol/L]
CC Nivel 1*	65 [54.1]	3.4 [2.8] (5.2)	5.3 [4.4] (8.2)
CC Nivel 2	151 [125.6]	6.5 [5.4] (4.3)	8.1 [6.7] (5.4)
CC Nivel 3	400 [332.8]	17.3 [14.4] (4.3)	19.0 [15.8] (4.8)
Mezcla de sangre completa-1**	83 [69.1]	4.9 [4.1] (5.9)	6.0 [5.0] (7.3)
Mezcla de sangre completa-2	132 [109.8]	5.5 [4.6] (4.2)	8.1 [6.7] (6.2)
Mezcla de sangre completa-3	219 [182.2]	7.7 [6.4] (3.5)	9.5 [7.9] (4.3)
Mezcla de sangre completa-4	369 [307.0]	13.5 [11.2] (3.6)	14.4 [12.0] (3.9)

*More Diagnostics Tac/CsA Immunosuppressant Controls, More Diagnostics Inc, Los Osos, CA 93402.

**Mezcla de sangre completa (1,2,3) preparada a partir de sangre completa con EDTA y suplementada gravimétricamente con ciclosporina en los niveles anteriores.

f. Todas las pruebas de características específicas de funcionamiento fueron realizadas después de llevarse a cabo las verificaciones normales recomendadas de control de calidad del instrumento. (Consulte el Manual del usuario del sistema Dimension®.)

g. Las pruebas de reproducibilidad se realizaron de acuerdo con la directriz NCCLS Guideline for Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices (Directriz aprobada por el NCCLS para la evaluación de la precisión en dispositivos de química clínica) (EP5-A2, 2004).

h. Las muestras de cada nivel se analizaron por duplicado, una vez al día, durante 20 días. Las desviaciones estándar intra-ensayo y totales fueron calculadas mediante el método de análisis de la varianza.

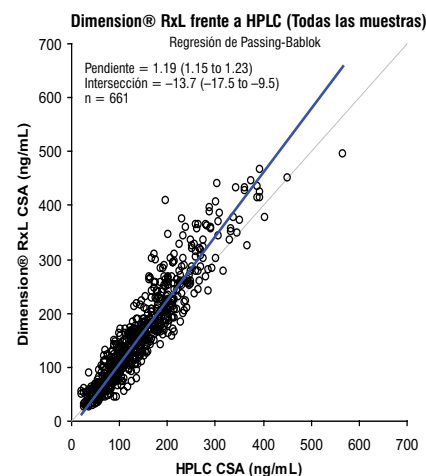
Comparación del método Estadística de regresión ⁱ				
Método comparativo	Pendiente	Intersección ng/mL [nmol/L]	Coefficiente de correlación	n ^j
Abbott TDx®				
Todos	0.83	-21.3 [-17.7]	0.957	667
Corazón	0.83	-20.9 [-17.4]	0.927	111
Hígado	0.82	-26.3 [-21.9]	0.952	201
Riñón	0.83	-18.8 [-15.6]	0.966	279
HPLC				
Todos	1.19	-13.7 [-11.4]	0.935	661
Corazón	1.28	-16.0 [-13.3]	0.893	111
Hígado	1.18	-13.3 [-11.1]	0.961	201
Riñón	1.13	-8.9 [-7.4]	0.920	273

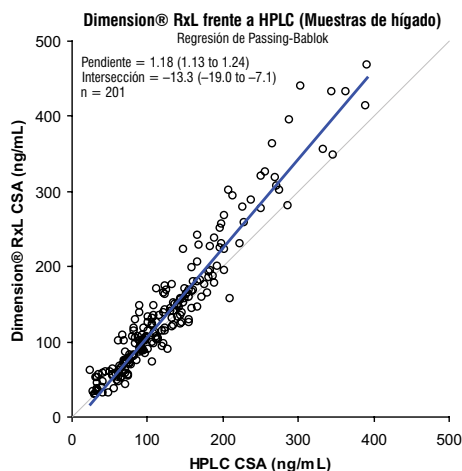
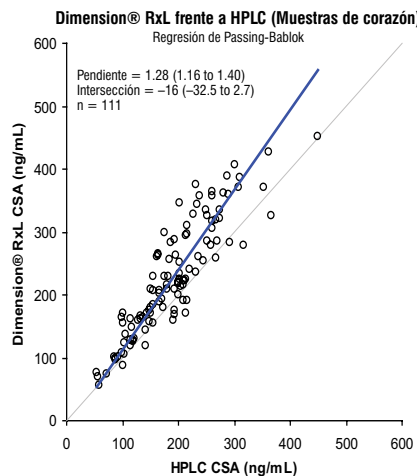
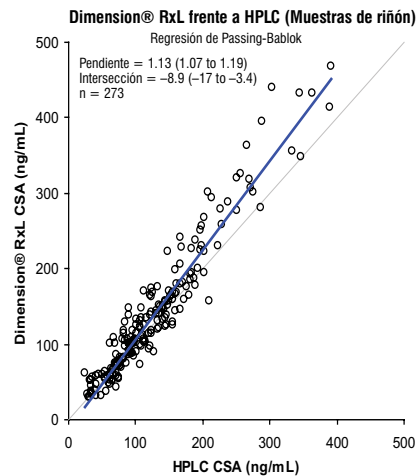
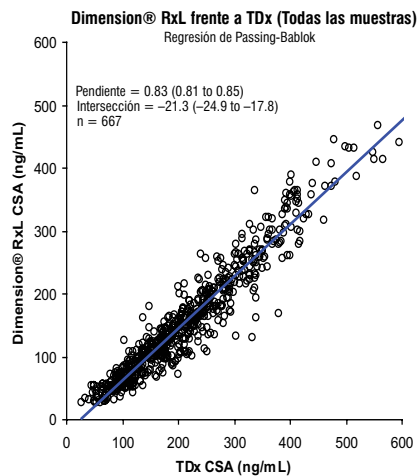
i. El método de Passing-Bablok¹⁴ se ha utilizado para ajustar la línea de regresión lineal. El modelo de la ecuación para los cálculos estadísticos de regresión es: Resultados del sistema Dimension® = (pendiente x resultados del método comparativo) + intersección.

Nota: También se ha realizado la regresión del método CSA de Dimension® (y) frente a HPLC (x) utilizando el método de regresión de mínimos cuadrados ordinario. El error de regresión de estimación (sy/x) fue de 32.3 ng/mL [26.9 nmol/L] (TODOS); 40.5 ng/mL [33.7 nmol/L](CORAZÓN); 24.7 ng/mL [20.6 nmol/L] (HIGADO); 25.4 ng/mL [21.1 nmol/L] (RIÑÓN).

j. El intervalo de valores de CSA en el estudio de correlación fue de 27.3 a 494.3 ng/mL [22.7-411.6 nmol/L]. El número de pacientes individuales (adultos, de 23 a 76 años), representado en las comparaciones de los métodos anteriores para cada uno de los grupos de trasplante de órganos es: 36 (Corazón); 44 (Hígado); 68 (Riñón); 32 (Médula ósea y Pulmón).

TDx® es la marca registrada de Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL 60064.





Especificidad

Sustancias que no causan interferencia

Las siguientes sustancias no interfieren con el método CSA si están presentes en la sangre completa en las concentraciones indicadas. Las inexactitudes (derivas) debidas a estas sustancias son inferiores al 10% a una concentración de CSA de 200 ng/mL [166.5 nmol/L]:

Sustancia	Concentración de la muestra	Unidades (SI)
Acetaminofeno	20 mg/dL	1322 µmol/L
Amicacina	15 mg/dL	256 µmol/L
Sulfato de amicacina	100 µg/mL	127.9 µmol/L
Anfotericina B	100 µg/mL	108.2 µmol/L
Ampicilina	5 mg/dL	143 µmol/L
Apresolina	100 µg/mL	508.7 µmol/L
Ácido ascórbico	3 mg/dL	170.3 µmol/L
Azatioprina	100 µg/mL	360.6 µmol/L
Bilirrubina	60 mg/dL	1026 µmol/L
Cafeína	10 mg/dL	515 µmol/L
Carbamazepina	12 mg/dL	508 µmol/L
Cefalosporina	100 µg/mL	208.9 µmol/L
Cloranfenicol	25 mg/dL	774 µmol/L
Clorpromazina	5 mg/dL	157 mmol/L
Colesterol	500 mg/dL	12.9 mmol/L
Cimetidina	10 mg/dL	396 µmol/L
Creatinina	30 mg/dL	2652 µmol/L
Dextrano 75	2500 mg/dL	333 µmol/L
Diazepam	2 mg/dL	70 µmol/L
Digoxina	5 ng/mL	6.4 nmol/L
Digitoxina	100 µg/mL	130.7 µmol/L
Dipiridamol	100 µg/mL	198.2 µmol/L
Disopiramida	100 µg/mL	294.6 µmol/L
Eritromicina	20 mg/dL	273 µmol/L
Etolol	350 mg/dL	76 mmol/L
Etosuximida	30 mg/dL	2125 µmol/L
FK506 (Tacrolimus)	0.1 µg/mL	0.12 µmol/L
Furosemda	2 mg/dL	61 µmol/L
Gentamicina	12 mg/dL	251 µmol/L
Hemoglobina	1000 mg/dL	0.62 mmol/L (monómero)
Heparina	8000 U/L	8000 U/L
Ibuprofeno	40 mg/dL	1939 µmol/L
Inmunoglobulina G	6 g/dL	60 g/L
Kanamicina A	100 µg/mL	171.6 µmol/L
Sulfato de Kanamicina B	100 µg/mL	206.8 µmol/L
Ketoconazol	100 µg/mL	188.2 µmol/L
Lidocaina	6 mg/dL	256 µmol/L
Lincomicina	100 µg/mL	225.7 µmol/L
Lipemia	1500 mg/dL	16.95 mmol/L (triglicérido)
Litio	3.5 mg/dL	5.07 mmol/L (cloruro de litio)
Metotrexato	100 µg/mL	220 µmol/L
Metilprednisolona	100 µg/mL	267 µmol/L
Ácido micofenólico	100 µg/mL	312.1 µmol/L
N-acetil procainamida	100 µg/mL	360.5 µmol/L
Sulfato de neomicina	100 µg/mL	110 µmol/L
Nicotina	2 mg/dL	123 µmol/L
Oxitoxina	100 µg/mL	99.3 µmol/L
Penicilina G	25 U/mL	25000 U/L
Pentobarbital	10 mg/dL	442 µmol/L
Fenobarbital	15 mg/dL	646 µmol/L
Fenitoína	10 mg/dL	396 µmol/L
Prazosina	100 µg/mL	238.2 µmol/L
Prednisolona	100 µg/mL	277.5 µmol/L
Prednisona	100 µg/mL	279 µmol/L
Primidona	10 mg/dL	458 µmol/L

Procainamida	100 µg/mL	367.9 µmol/L
Propoxifeno	0.4 mg/dL	12 µmol/L
Propranolol	100 µg/mL	338 µmol/L
Proteína (Albumina)	6 g/dL	60 g/L
Proteína (Total)	4 g/dL	40 g/L
Proteína (Total)	12 g/dL	120 g/L
Quinidina	100 µg/mL	308.3 µmol/L
Rapamicina	0.1 µg/mL	0.11 µmol/L
Factor reumatoide	500 UI/mL	500 UI/mL
Rifampina	100 µg/mL	121.5 µmol/L
Ácido salicílico	50 mg/dL	3.62 mmol/L
Espectinomycin	100 µg/mL	246.7 µmol/L
Estreptomycin	100 µg/mL	68.6 µmol/L
Teofilina	25 mg/dL	1388 µmol/L
Tobramicina	100 µg/mL	213.9 µmol/L
Tocainida	100 µg/mL	438.6 µmol/L
Triamtereno	100 µg/mL	394.8 µmol/L
Urea	500 mg/dL	83.3 mmol/L
Ácido úrico	20 mg/dL	1.2 mmol/L
Ácido valproico	50 mg/dL	3467 µmol/L
Vancomicina	100 µg/mL	67.3 µmol/L
Verapamila	100 µg/mL	203.6 µmol/L

Reactividad cruzada

Se evaluó la reactividad cruzada de seis metabolitos principales en presencia de ciclosporina en concentraciones de 200 ng/mL [166.5 nmol/L]. El porcentaje de reactividad cruzada se calculó de la forma siguiente:

$$\% \text{ reactividad cruzada} = \frac{\text{CSA medido} - \text{control CSA (200 ng/mL) [166.5 nmol/L]}}{\text{metabolito añadido}} \times 100$$

Metabolito de ciclosporina	Nivel de metabolito de la prueba ng/mL [nmol/L]	Reactividad cruzada%
AM1 (M17)	1000 [821]	1.8
AM1c (M18)	1000 [821]	1.1
AM1c9 (M26)	1000 [810]	1.7
AM4N (M21)	1000 [842]	6.0
AM9 (M1)	1000 [821]	2.1
AM19 (M8)	1000 [810]	1.8

Recuperación

Se añadieron cantidades conocidas de CSA a las muestras de sangre humana completa en concentraciones de 100, 200, 300 y 400 ng/mL [83.3, 166.5, 249.8, 333.0 nmol/L]. Se midieron las concentraciones de CSA de las muestras y el porcentaje de recuperación calculado osciló entre el 93.0% y el 101.4% con una recuperación media del 96.6%.

$$\text{Porcentaje de recuperación} = \frac{\text{Valor obtenido} - \text{Basal}}{\text{Cantidad añadida}} \times 100$$

Linealidad

El análisis de ciclosporina en el sistema Dimension® RxL mediante el método CSA de Dimension® muestra una desviación con respecto a la línea estimada de menos de 10 ng/mL [8.3 nmol/L] con una confianza del 95% para una concentración analítica de 200 ng/mL [166.5 nmol/L]. El límite inferior de la hipótesis de linealidad es de 25 ng/mL [20.8 nmol/L].

Límite de detección: 25 ng/mL [20.8 nmol/L]

El límite de detección de CSA es 25 ng/mL, determinado de acuerdo con la directriz CLSI EP17-A y con proporciones de falsos positivos (α) inferiores al 5% y falsos negativos (β) inferiores al 5%; basado en 120 determinaciones, con 5 muestras en blanco y 5 de bajo nivel.¹⁵

Sensibilidad funcional: 30 ng/mL [25.0 nmol/L]

La sensibilidad funcional de CSA fue determinada ensayando varias muestras (10 - 70 ng/mL) y evaluando la precisión total de estas muestras. El estudio se llevó a cabo durante un período de seis semanas, con 12 días de pruebas con un análisis por día con muestras procesadas en singulete en dos instrumentos con dos lotes de reactivos. El análisis incluía los datos de dos calibraciones. El coeficiente de variación intra-ensayo se trazó mediante la regresión no lineal frente a la concentración. La sensibilidad funcional (a 20% CV) fue de 30 ng/mL [25.0 nmol/L].

Clave de los símbolos: Véase el panel adyacente.

Bibliografía: Véase el panel adyacente.

Dimension®, Flex®, EXL™ y LOCI® son marcas comerciales de Siemens Healthcare Diagnostics.

©2009 Siemens Healthcare Diagnostics
Reservados todos los derechos.



Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA



Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía:

- McMillan MA. Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. *Pharmac Ther* 1989;42:135-156.
- Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989;321:1725-1738.
- Borel JF. Cyclosporin A - present experimental status. *Transplant Proc* 1981;13:344-8.
- Physicians Desk Reference, ed 49 Montvale, NJ Medical Economics Data Production Company, 1995, pp 2184-2185.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard – Fifth Edition*. CLSI/NCCLS document H3-A5 [ISBN 1-56238515-1]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection; Approved Standard – Fifth Edition*. CLSI/NCCLS document H1-A5 [ISBN 1-56238-519-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne PA 19087-1898 USA, 2003.
- Lemaire M, Tillement JP. Role of lipoproteins and erythrocytes in the *in vitro* binding and distribution of cyclosporin A in the blood. *J Pharm Pharmacol* 1982;34:715.
- Warner A, Annesley T. *Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring Services*, NACB/AACC Press, 2029 K Street, N.W., Washington, D.C., 1999, p 46.
- Kaplan LA, Pesce, AJ. *Clinical Chemistry-Theory, analysis and correlation*, Third Edition, Mosby Co., 1996, p. 1105.
- Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')₂ conjugate and polyclonal mouse IgG. *Clin Chem* 1992;38:1737-1742.
- Kricka LJ. Human Anti-Animal Antibody Interferences in Immunological Assays. *Clin Chem* 1999; 45:7,942-956.
- Ismail AA, Walker, PL, Cawood ML and Arth JH. Interference in immunoassay is an underestimated problem. *Ann. Clin. Biochem* 2002; 39:1737-1742.
- Cyclosporine Task Force. Critical issues in cyclosporine monitoring: Report of the task force on cyclosporine monitoring. *Clin Chem* 1987;33:1269-88.
- Passing HW. Bablok (1983): A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. *J. Clin. Chem. Biochem.* 21: 709-720.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. CLSI/NCCLS document EP17-A [ISBN 1-56238-551-8]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2004.

Symbols Key Symbolschlüssel Explication des Symboles Interpretazione simboli Clave de los Símbolos



Do not reuse / Nicht zur Wiederverwendung / Ne pas réutiliser / Non riutilizzare / No reutilizar



Use By / Verwendbar bis / Utiliser jusque / Utilizzare entro / Fecha de caducidad



Batch Code / Chargenbezeichnung / Code du lot / Codice del lotto / Código de lote



Catalogue Number / Bestellnummer / Référence du catalogue / Numero di catalogo / Número de catálogo



Caution, consult accompanying documents / Achtung, Begleitdokumente beachten / Attention voir notice d'instructions / Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso / Atención, ver instrucciones de uso



Manufacturer / Hersteller / Fabricant / Fabbicante / Fabricante



Authorized Representative in the European Community / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft / Mandataire dans la Communauté européenne / Mandatario nella Comunità Europea / Representante autorizado en la Comunidad Europea



Contains sufficient for <n> tests / Inhalt ausreichend für <n> Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para <n> ensayos



In Vitro Diagnostic Medical Device / In-Vitro-Diagnostikum / Dispositif médical de diagnostic *in vitro* / Dispositivo medico-diagnostico *in vitro* / Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Temperature Limitation / Temperaturbegrenzung / Limites de température / Limiti di temperatura / Limite de temperatura



Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter les instructions d'utilisation / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulte las instrucciones de uso



Non-sterile / Nicht steril / Non stérile / Non sterile / No estéril



CE Mark / CE Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / Marca CE



Contents / Inhalt / Contenu / Contenuto / Contenido



Reconstitution Volume / Rekonstitutionsvolumen / Volume de reconstitution / Volume di ricostituzione / Volumen de reconstitución



Level / Konzentration / Niveau / Livello / Nivel

2014-10_EFIS

 Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
500 GBC Drive
Newark, DE 19714 USA

Global Siemens
Headquarters
Siemens AG
Wittelsbacherplatz 2
80333 Muenchen
Germany

Global Siemens
Healthcare Headquarters
Siemens AG
Healthcare Sector
Henkestrasse 127
91052 Erlangen
Germany
Phone: +49 9131 84-0
siemens.com/healthcare

Global Division
Siemens Healthcare
Diagnostics Inc.
511 Benedict Avenue
Tarrytown, NY 10591
USA
siemens.com/healthcare

