

IMMULITE® 2000 Набор реагентов для определения фенитоина/Phenytoin

Назначение

Для диагностики *in vitro* с использованием анализаторов IMMULITE 2000 — для количественного определения фенитоина в сыворотке или гепаринизированной плазме в качестве дополнительного метода при мониторинге лекарственной терапии.

Каталожный номер: **L2KPN2** (200 тестов)

Код теста: **PHN** Цвет: **темно-серый**

Краткое описание и пояснение

Фенитоин (5,5-дифенилгидантоин; молекулярная масса: 252,3 Да) — противоэпилептический препарат, широко используемый для лечения разных видов судорожных приступов. Обычно применяется перорально как собственно фенитоин (Dilantin®) или внутривенно (в/в) либо внутримышечно (в/м) как его препарат-предшественник фосфенитоин (Cerebux®) — относительно водорастворимый фосфатный эфир фенитоина. В зависимости от способа введения преобразование фосфенитоина в фенитоин обычно происходит за 2–4 часа.¹⁻⁴

Большая часть циркулирующего фенитоина прочно связана с белками плазмы, главным образом альбумином. В норме только приблизительно 10 % циркулирует в организме в фармакологически активной свободной форме, хотя при некоторых заболеваниях, например почечной недостаточности, эта фракция может увеличиваться до 30 % и больше.⁵ Количество циркулирующего в свободной форме фенитоина обычно увеличивается при гипоальбуминемии и заболеваниях, при которых другие соединения конкурируют с фенитоином за участки связывания белка. К ним относятся, например, вальпроевая кислота и другие противосудорожные препараты, которые могут приниматься одновременно с фенитоином; салицилаты и нестероидные противовоспалительные препараты, в частности оксапрозин (Daypro®); а также многие другие препараты, сильно связывающиеся с альбумином. Аналогичным образом при высоком уровне свободных жирных кислот фенитоин может вытесняться из белков плазмы.

Клиренс фенитоина происходит в печени, где он преобразуется главным образом в 5-(*p*-гидроксифенил)-5-фенилгидантоин (HPPH), который далее преобразуется в глюкуронидовый метаболит и выводится с мочой.^{2,5} Несмотря на свою неактивность, эти метаболиты — HPPH и его глюкуронид HPPG — структурно родственны фенитоину и могут конкурировать с ним за участки связывания белка. Клиренс несколько снижается с возрастом и при почечной недостаточности. Можно ожидать, что препараты, увеличивающие или ингибирующие способность печени метаболизировать фенитоин, будут влиять на его циркулирующий уровень. Кроме того, метаболическая емкость ограничена, поэтому зависимость между дозой и циркулирующим уровнем нелинейна: при высоких уровнях, даже в терапевтическом диапазоне, небольшие увеличения дозы могут вызывать значительное увеличение циркулирующего уровня.

Мониторинг фенитоина традиционно выполняют с помощью иммуноанализа, поскольку его (общий) циркулирующий уровень коррелирует с терапевтическими и токсическими эффектами лучше, чем получаемая доза.⁶ Общепринятый терапевтический диапазон общего циркулирующего фенитоина составляет 10–20 мкг/мл (40–80 мкмоль/л), однако его можно рассматривать только в качестве рекомендованного.^{1,7-9} (Для свободного циркулирующего фенитоина диапазон не установлен.) При оптимизации дозы нужно учитывать клинический ответ пациента на препарат. Низкий уровень может указывать на недостаточность дозы, что будет проявляться частотой и/или степенью тяжести судорожных приступов. Высокий уровень может проявляться симптомами нейротоксичности, включая непроизвольные ритмичные движения глаз (нистагм), тошноту, рвоту, нарушение координации (атаксию), нарушение артикуляции (дизартрию), сильную вялость и т. д., и даже усугублением судорожных приступов.

Принципы проведения теста

IMMULITE 2000 Phenytoin — это твердофазный конкурентный хемилюминесцентный иммуноферментный анализ.

Циклы инкубации: 1 × 30 минут.

Взятие образцов

Образец не нужно брать у пациента натошак, и специальное приготовление не требуется. Соберите кровь методом венепункции, не допуская гемолиза, в чистые (без антикоагулянта) или гепаринизированные пробирки и отделите сыворотку или плазму от клеток. Не используйте пробирки с гелевым барьером.^{1,10-11}

У пациентов, получающих фосфенитоин (Cerebux[®]), важно брать образцы для теста на фенитоин не раньше чем через 2 часа после завершения внутривенной инфузии или через 4 часа после внутримышечного введения, когда преобразование препарата-предшественника в фенитоин в целом завершено.¹⁻³

Для очистки липемических образцов рекомендуется использовать ультрацентрифугу.

Если образец гемолизирован, это может свидетельствовать о его неправильной обработке перед поступлением в лабораторию. Результаты такого образца следует интерпретировать с осторожностью.

Центрифугирование образцов сыворотки до завершения формирования сгустка может привести к появлению фибрина в образце. Чтобы предотвратить получение ошибочных результатов в связи с наличием фибрина, перед центрифугированием образца убедитесь, что произошло полное формирование сгустка. Для некоторых образцов, особенно взятых у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, может потребоваться увеличенное время свертывания.

Пробирки для сбора крови от разных производителей могут давать разные результаты, в зависимости от материалов и добавок, включая гель и физические барьеры, активаторы свертывания и/или антикоагулянты. Характеристики IMMULITE 2000 Phenytoin не были проверены со всеми возможными типами пробирок. Для получения дополнительной информации о проверенных пробирках см. раздел, посвященный альтернативным типам образцов.

Необходимый объем: 10 мкл сыворотки или гепаринизированной плазмы.

Хранение: 7 дней при температуре 2–8°C или 1 месяц при –20°C.¹²

Предупреждения и предостережения

Для диагностики *in vitro*.



ВНИМАНИЕ! ВОЗМОЖНАЯ БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОПАСНОСТЬ

Содержит материал человеческого происхождения. Каждый донорский образец человеческой крови или компонента крови был протестирован с применением утвержденных FDA методов на наличие антител к вирусу иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) и типа 2 (ВИЧ-2), а также на наличие поверхностного антигена гепатита В (HBsAg) и антител к вирусу гепатита С (HCV). Результаты теста были отрицательными (повторное отсутствие реакции). Поскольку ни один метод тестирования не может дать полной гарантии отсутствия данных или других инфекционных агентов, с этими материалами следует обращаться в соответствии с установленными правилами надлежащей лабораторной практики и общими мерами предосторожности.¹³⁻¹⁵

ВНИМАНИЕ! Изделие содержит материалы животного происхождения, поэтому с ним следует обращаться как с потенциальным носителем и переносчиком заболеваний.

Реагенты: храните при температуре 2–8°C. Утилизируйте согласно действующему законодательству.

Соблюдайте общие меры предосторожности и обращайтесь со всеми компонентами как с источниками инфекции. Исходные материалы, полученные из человеческой крови, были протестированы и не дали положительного результата на сифилис, антитела к ВИЧ 1 и 2, поверхностный антиген гепатита В и антитела к гепатиту С.

В качестве консерванта был добавлен азид натрия, концентрация которого составляет менее 0,1 г/дл. В момент утилизации промойте большим количеством воды, чтобы предотвратить скопление потенциально взрывоопасных азидов металлов в свинцовых и медных водопроводных трубах.

Хемилюминесцентный субстрат: избегайте загрязнения и воздействия прямого солнечного света. (См. вкладыш.)

Вода: используйте дистиллированную или деионизированную воду.

Поставляемые материалы

Компоненты поставляются в виде набора. Этикетки на внутренней коробке необходимы для анализа.

Phenytoin Bead Pack (Упаковка шариков) (L2PN12)

Со штрихкодом. 200 шариков, покрытых поликлональными кроличьими антителами к фенитоину. Стабильны при 2–8°C до истечения срока годности.

L2KPN2: 1 упаковка.

Phenytoin Reagent Wedge (Реагентный клин) (L2PNA2)

Со штрихкодом. 21 мл щелочной фосфатазы (из кишечника теленка), конъюгированной с фенитоином в буфере с консервантом. Реагент равномерно распределен в отсеках А и В. Стабилен при 2–8°C до истечения срока годности.

L2KPN2: 1 клин.

Перед использованием оторвите верхнюю часть этикетки по перфорации, стараясь не повредить штрихкод. Снимите фольгу с поверхности клина. Защелкните скользящую крышку в направляющих на поверхности клина.

Phenytoin Adjustors (Калибраторы) (LPNL, LPNH)

Два флакона (высокий и низкий), 2,0 мл каждый, фенитоина в обработанной сыворотке человека с консервантом. Стабильны 30 дней (после вскрытия) при 2–8°C или 6 месяцев (аликвотами) при –20°C.

L2KPN2: 1 набор.

Перед калибровкой наклейте соответствующие аликвотные наклейки со штрихкодом (из набора) на пробирки образцов таким образом, чтобы штрихкоды могли быть считаны сканером анализатора.

Материалы, поставляемые отдельно

L2SUBM: Хемилюминесцентный субстрат/Chemiluminescent substrate module

L2PWSM: Раствор для промывки дозаторов/Probe wash module

L2KPM: Набор для очистки дозаторов/Probe cleaning kit

LRXT: Реакционные пробирки/Immulite disposable sample cups (одноразовые)

SDCM: Контрольный материал для тестов по определению лекарственных и наркотических веществ/Serum Drug Control Module

Также требуются

Дистиллированная или деионизированная вода; пробирки; контрольные образцы.

Процедура анализа

Обратите внимание, что для оптимальной эффективности важно выполнять все процедуры регулярного обслуживания, описанные в руководстве пользователя IMMULITE 2000.

См. инструкции по подготовке, настройке, разведению, калибровке, анализу и контролю качества в руководстве пользователя IMMULITE 2000.

Рекомендуемый интервал калибровки: 2 недели.

Образцы контроля качества: используйте не менее двух уровней контрольных образцов или пулы сыворотки (низкий и высокий) фенитоина.

Терапевтический диапазон

Общепринятый терапевтический диапазон фенитоина составляет 10–20 мкг/мл (40–80 мкмоль/л).^{1,7-9} Токсические эффекты наблюдаются при концентрациях свыше 20 мкг/мл.

Эти пределы можно рассматривать только в качестве *рекомендованных*.

Ограничения

При интерпретации концентрации фенитоина необходимо учитывать следующие факторы:

- Все другие лекарственные препараты, одновременно принимаемые пациентом
- Время взятия образца относительно времени принятия препарата
- Существующие заболевания

Гетерофильные антитела человеческой сыворотки могут вступать в реакцию с иммуноглобулинами в составе реагента, приводя к интерференции в *in vitro* иммуноанализе. [См. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Для образцов пациентов, постоянно контактирующих с животными или продуктами животной сыворотки, может наблюдаться интерференция и, как следствие, аномальные результаты для образцов. Состав данных реагентов подобран таким образом, чтобы минимизировать риск интерференции; однако в редких случаях возможно взаимодействие компонентов сыворотки и теста. При диагностике результаты этого анализа следует использовать в сочетании с результатами клинического обследования пациента, анамнезом и другими данными.

Характеристики теста

Репрезентативные данные эффективности анализа представлены в таблицах и на графиках. Результаты выражаются в мкг/мл. (Если не указано иное, все результаты были получены на образцах сыворотки, собранных в пробирки без гелевых барьеров или вспомогательных веществ, способствующих свертыванию.)

Коэффициент преобразования: мкг/мл $\times$ 3,96 $\rightarrow$ мкмоль/л

Диапазон калибровки: 2,5–40 мкг/мл (9,9–158 мкмоль/л).

Анализ соответствует внутреннему стандарту, созданному с использованием проверенных материалов и процедур измерения.

Аналитическая чувствительность: 0,5 мкг/мл (2,0 мкмоль/л).

Воспроизводимость: образцы анализировали в дублях в течение 20 дней, по два раза в день, выполнив в общей сложности 40 постановок и 80 повторностей. (См. таблицу «Воспроизводимость».)

Линейность: образцы анализировали в различных разведениях. (Репрезентативные данные представлены в таблице «Линейность».)

Эффект добавленной концентрации: проводилось исследование образцов с добавлением трех растворов фенитоина в соотношении 1 к 19 (80, 160 и 320 мкг/мл). (Репрезентативные данные представлены в таблице «Эффект добавленной концентрации».)

Специфичность: антитело обладает высокой специфичностью к фенитоину. Перекрестная реактивность к основному метаболиту, HPPH, составляет приблизительно 12 %, однако к производному эфиру глюкуронида, HPPG, существенной перекрестной реактивности не наблюдается. (См. таблицу «Специфичность».)

Билирубин: наличие конъюгированного и неконъюгированного билирубина в концентрации до 200 мг/л не оказывало влияния на результаты (в границах заявленной воспроизводимости теста).

Биотин: Образцы, содержащие биотин в концентрации 1500 нг/мл, демонстрируют изменения результатов равные 10 % или менее. Концентрация биотина выше указанной может привести к неправильным результатам для проб пациентов.

Гемолиз: наличие гемоглобина в концентрации до 512 мг/дл не оказывало влияния на результаты (в границах заявленной воспроизводимости теста).

Липемия: наличие триглицеридов в концентрации до 3000 мг/дл не оказывало влияния на результаты (в границах заявленной воспроизводимости теста).

Альтернативный тип образца: образцы ($n = 20$) собирались в чистые и гепаринизированные вакуумные пробирки. Проводилось исследование образцов с добавлением фенитоина и последующим анализом с помощью теста IMMULITE 2000 Phenytoin.

(Гепарин) = 1,02 (сыворотка) – 0,51 мкг/мл
 $r = 0,988$

Средние:
8,34 мкг/мл (сыворотка)
7,98 мкг/мл (гепарин)

Сравнение методов 1: тест сравнивали с коммерчески доступным тестом на фенитоин (набор А) для 51 образца. (Диапазон концентраций: приблизительно от 3,3 до 30 мкг/мл. См. график 1.)
Линейная регрессия:

(IML 2000) = 0,95 (набор А) – 0,22 мкг/мл
 $r = 0,982$

Средние:
10,9 мкг/мл (IMMULITE 2000)
11,7 мкг/мл (набор А)

Сравнение методов 2: тест сравнивали с IMMULITE Phenytoin для 117 образцов. (Диапазон концентраций: приблизительно от 2,8 до 40 мкг/мл. См. график 2.) Линейная регрессия:

(IML 2000) = 1,03 (IML) + 0,55 мкг/мл
 $r = 0,976$

Средние:
15,2 мкг/мл (IMMULITE 2000)
14,2 мкг/мл (IMMULITE)

Список литературы

1. Warner A, Privitera M, Bates D. Standards of laboratory practice: antiepileptic drug monitoring. National Academy of Clinical Biochemistry. Clin Chem 1998;44:1085-95.
2. Roberts WL, De BK, Coleman JP, Annesley TM. Falsely increased immunoassay measurements of total and unbound phenytoin in critically ill uremic patients receiving fosphenytoin. Clin Chem 1999;45:829-37.
3. Kugler AR, Annesley TM, Nordblom GD, et al. Cross-reactivity of fosphenytoin in two human plasma phenytoin immunoassays. Clin Chem 1998;44:1474-80.
4. Aweeka FT, Gottwald MD, Gambertoglio JG, et al. Pharmacokinetics of fosphenytoin in patients with hepatic or renal disease. Epilepsia 1999;40:777-82.
5. Rainey PM, Rogers KE, Roberts WL. Metabolite and matrix interference in phenytoin immunoassays. Clin Chem 1996;42:1645-53.
6. Yukawa E. Optimisation of antiepileptic drug therapy. The importance of serum drug concentration monitoring. Clin Pharmacokinet 1996;31:120-30.
7. Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999: 874-5.
8. Hayes G, Kootsikis ME. Reassessing the lower end of the phenytoin therapeutic range: a review of the literature. Ann Pharmacother 1993;27:1389-92.
9. Schumacher GE, Barr JT, Browne TR, Collins JF. Test performance characteristics of the serum phenytoin concentration (SPC): the relationship between SPC and patient response. The Veterans Administration Epilepsy Cooperative Study Group. Ther Drug Monit 1991;13:318-24.
10. Cai WM, Leader WG, Porter WH, Chandler MH. Influence of serum separator tubes on total and free phenytoin concentrations and dosages. Ther Drug Monit 1993;15:427-30.
11. Mauro LS, Mauro VF. Effect of serum separator tubes on free and total phenytoin and carbamazepine serum concentrations. Ther Drug Monit 1991;13:240-3.
12. Quest Diagnostics. The 1997/1998 Quest Diagnostics Nichols Institute reference manual. San Juan Capistrano: Quest Diagnostics, 1997: 228.
13. Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. MMWR, 1988;37:377-82, 387-8.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3.
15. Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.

Техническая поддержка

Обратитесь к национальному дистрибьютору.

www.siemens.com/diagnostics

Система контроля качества Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd. сертифицирована согласно стандарту ISO 13485.

Таблицы и графики

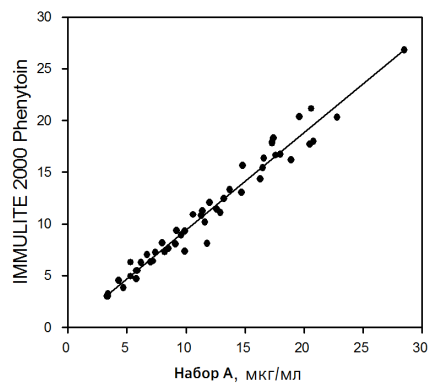
Воспроизводимость (мкг/мл)

	Среднее	Внутрисерийная		Всего	
		SD	CV, %	SD	CV
1	3,5	0,31	8,9 %	0,43	12 %
2	7,1	0,44	6,2 %	0,86	12 %
3	8,5	0,71	8,4 %	0,80	9,4 %
4	18	1,2	6,7 %	1,6	8,9 %
5	35	1,9	5,6 %	3,1	8,9 %

Линейность (мкг/мл)

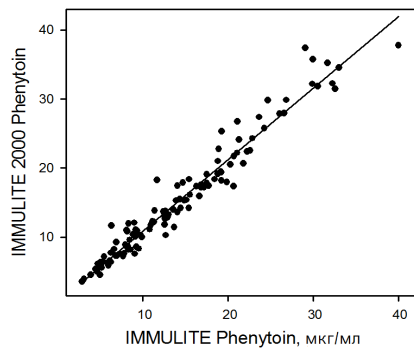
	Разведение	Наблюдаемое	Ожидаемое	% набл/ожд
1	8 к 8	17,9	—	—
	4 к 8	8,7	9,0	97 %
	2 к 8	4,9	4,5	109 %
	1 к 8	< 2,5	2,2	—
2	8 к 8	23,6	—	—
	4 к 8	11,0	11,8	93 %
	2 к 8	5,5	5,9	93 %
	1 к 8	2,8	3,0	93 %
3	8 к 8	27,3	—	—
	4 к 8	13,6	13,7	99 %
	2 к 8	7,0	6,8	103 %
	1 к 8	3,5	3,4	103 %
4	8 к 8	29,8	—	—
	4 к 8	15,9	14,9	107 %
	2 к 8	8,3	7,5	111 %
	1 к 8	3,5	3,7	95 %
5	8 к 8	33,3	—	—
	4 к 8	16,1	16,7	96 %
	2 к 8	7,8	8,3	94 %
	1 к 8	3,9	4,2	93 %

Сравнение методов 1



$$(IML\ 2000) = 0,95 (\text{набор } A) - 0,22 \text{ мкг/мл}$$
$$r = 0,982$$

Сравнение методов 2



$$(IML\ 2000) = 1,03 (IML) + 0,55 \text{ мкг/мл}$$
$$r = 0,976$$

Эффект добавленной концентрации (мкг/мл)

	Раствор	Наблюдаемое	Ожидаемое	% набл/ожд
1	—	2,7	—	—
	A	6,8	6,6	103 %
	B	11,4	10,6	108 %
	C	20,2	18,6	109 %
2	—	6,2	—	—
	A	9,6	9,9	97 %
	B	13,8	13,9	99 %
	C	22,7	21,9	104 %
3	—	8,2	—	—
	A	11,1	11,8	94 %
	B	15,6	15,8	99 %
	C	24,3	23,8	102 %
4	—	9,2	—	—
	A	12,7	12,7	100 %
	B	17,1	16,7	102 %
	C	25,8	24,7	104 %
5	—	12,5	—	—
	A	14,7	15,9	92 %
	B	20,1	19,9	101 %
	C	31,3	27,9	112 %

Специфичность (мкг/мл)

Соединение	Добавленное количество	Эффективная конц.	Перекрестная реактивность, %
Клоназепам	40	Н/О	Н/О
Диазепам	2,5	Н/О	Н/О
Этосуксимид	100	Н/О	Н/О
Имипрамин	1,0	Н/О	Н/О
Фенилбутазон	45	Н/О	Н/О
Примидон	12	Н/О	Н/О
Секобарбитал	15	Н/О	Н/О
Карбамазепин	20	Н/О	Н/О
Фенобарбитал	40	Н/О	Н/О
Теofilлин	20	Н/О	Н/О
Вальпроевая кислота	100	Н/О	Н/О
НРРН	20	2,43	12,2 %
НРРГ	100	0,21	0,3 %

Н/О: необнаруживаемый.

IMMULITE® является товарным знаком компании Siemens Healthcare Diagnostics.

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics. Все права защищены.

Made in: UK



Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd.
Glyn Rhonwy, Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

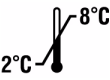
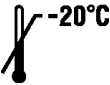
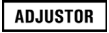
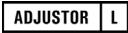
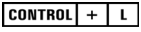
2018-03-15

PIL2KPN – 17_RU

сс#EU23262, сс#EU23262A, сс#EU23343

Описание символов

На этикетку изделия могут наноситься следующие символы:

Символ	Описание	Символ	Описание
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>		Коррозия
	Номер по каталогу		Череп и скрещенные кости
	Производитель		Окружающая среда
	Уполномоченный представитель в Европейском союзе		Упаковка шариков
	Маркировка CE		Тест-единица
	Маркировка CE с идентификационным номером нотифицированного органа		Реагентный клин
	Ознакомьтесь с инструкцией по применению		
	Внимание! Возможная биологическая опасность		
	Температурные ограничения (2–8°C)		
	Верхняя температурная граница ($\leq -20^{\circ}\text{C}$)		Калибратор
	Нижняя температурная граница ($\geq 2^{\circ}\text{C}$)		Калибратор, низкий
	Замораживать запрещено ($> 0^{\circ}\text{C}$)		Калибратор, высокий
	Не использовать повторно		Антитело калибратора
	Не подвергать воздействию солнечных лучей		Разбавитель образца
	Код партии		Контрольный образец
			
			
			
			Положительный контрольный образец
			Низкоположительный контрольный образец

Символ	Описание	Символ	Описание
	Содержит количество, достаточное для (n) тестов		Отрицательный контрольный образец
2008-01	Формат даты (год-месяц)		Антитело контроля
	Использовать до:		Раствор для предварительной обработки
			
	Опасность для здоровья		Раствор дитиотрейтола
	Восклицательный знак		Боратный буферный раствор с цианидом калия