

Monitorización de ciclosporina: Documento de consenso (ONT-SEN)

C. Felipe *, J. J. Villafuela ** y M. Rengel ***

* Organización Nacional de Trasplantes. ** Laboratorio de Nefrología. Hospital Ramón y Cajal (Madrid). *** Servicio de Nefrología. Hospital Gregorio Marañón (Madrid)

Presentación

Desde que en 1982-1983 se publicaron los primeros estudios multicéntricos europeo y canadiense^{1,2}, la ciclosporina A (CsA) ha sido incorporada de forma progresiva por los distintos equipos de trasplante como inmunosupresor básico, siendo en el momento actual parte del tratamiento habitual.

Este fármaco ha permitido mejorar los resultados de los trasplantes de órganos tanto en la supervivencia del paciente como del injerto, siendo la monitorización terapéutica de la CsA, hoy por hoy, una de las formas de evaluar una inmunosupresión adecuada y de evitar efectos secundarios^{3,5}.

En España, en el momento actual existen más de 10.000 pacientes portadores de un trasplante; de ellos, más de 7.000 son renales, y se han realizado más de 1.500 trasplantes de médula ósea. La actividad trasplantadora de órganos sólidos en los últimos años ha sido importante (figs. 1, 2 y 3). Durante el año 1991 se han realizado en España 1.371 trasplantes renales, 412 trasplantes hepáticos y 232 trasplantes cardíacos.

Estos trasplantes se realizan en 38 centros de trasplante renal, 12 centros de trasplante cardíaco, 14 centros de

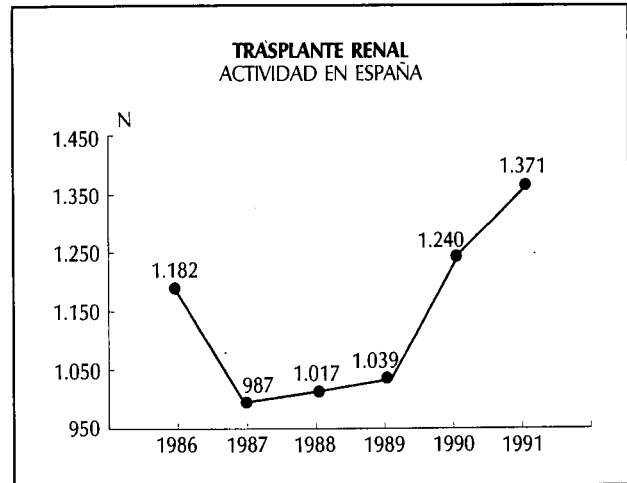


Fig. 1.—Evolución de la actividad de trasplante renal en España (desde 1986).

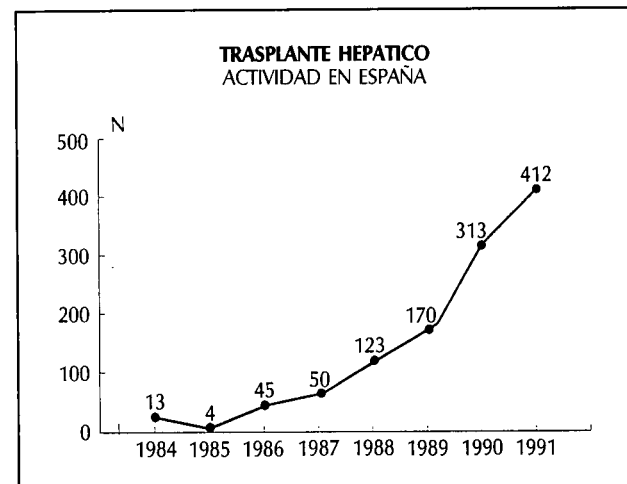


Fig. 2.—Evolución de la actividad de trasplante hepático en España.

Grupo de trabajo ONT-SEN (por orden alfabético):

M. Anguita Sánchez. Servicio de Cardiología. Hospital Reina Sofía. Córdoba; M. Catalán González. Servicio de Farmacología Clínica. Clínica Universitaria de Navarra; M.A. Cos Cossío. Servicio de Farmacología Clínica. Hospital Marqués de Valdecilla. Santander; C. Felipe Fernández. Organización Nacional de Trasplantes; J.I. García García. Servicio de Cirugía. Hospital Doce de Octubre. Madrid; L. Grande Posa. Servicio de Cirugía. Hospital Clinic i Provincial. Barcelona; L. Pou Clavé. Servicio de Bioquímica. Hospital Vall d'Hebrón. Barcelona; M. Rengel Aranda. Servicio de Nefrología. Hospital Gregorio Marañón. Madrid; M. Rodamilans Pérez. Servicio de Bioquímica. Hospital Clinic i Provincial. Barcelona; D. Serón Micas. Servicio de Nefrología. Hospital de Bellvitge. Hospitalet de Llobregat; F. Serrano Gómez. Servicio de Hematología. Hospital La Princesa. Madrid; T. Torres. Laboratorio de Nefrología. Clínica Puerta de Hierro. Madrid; J.J. Villafuela. Laboratorio de Nefrología. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

Correspondencia: Dr. R. Matesanz.
Organización Nacional de Trasplantes.
C/ Sinesio Delgado, 8.
28029 Madrid.

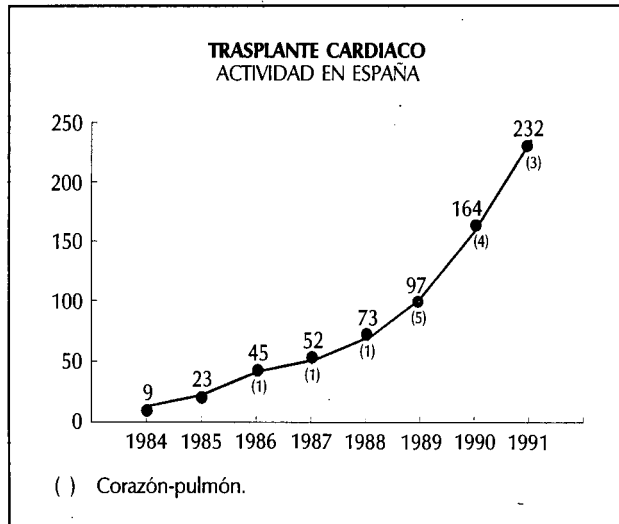


Fig. 3.—Evolución de la actividad de trasplante cardíaco en España.

trasplante hepático y 22 servicios de hematología que realizan trasplantes de médula ósea.

Los dos últimos años han supuesto un importante crecimiento en la actividad trasplantadora de nuestro país, y todo hace pensar que se incrementará aún más en los próximos años con la mejora en la infraestructura de las unidades ya existentes y la incorporación de nuevos órganos y tejidos susceptibles de ser trasplantados.

Conscientes de la necesidad de monitorizar los niveles de ciclosporina, de la distinta metodología disponible para ello en los diferentes centros y de la necesidad de facilitar la transmisión de información de un centro a otro, ante la posibilidad de tener que tratar de forma sucesiva o puntual a los mismos pacientes, la Organización Nacional de Trasplantes y la Sociedad Española de Nefrología consideraron que eran necesarias unas líneas generales que facilitarían la interpretación de los datos y ayudarían a mejorar el tratamiento de estos pacientes; éste fue el motivo que decidió a estas dos organizaciones a avalar el desarrollo de una conferencia de consenso a nivel nacional en consonancia con las ya desarrolladas en otros países^{6,7}. Dicha conferencia se desarrolló en El Paular los días 14 y 15 de noviembre de 1991 y en ella estuvieron representados 13 profesionales de los distintos aspectos en relación con el trasplante.

Este documento ha sido revisado por todos los participantes antes de hacerse público.

Participantes en el consenso por orden alfabético:

M. Anguita Sánchez (Servicio de Cardiología, Hospital Reina Sofía, Córdoba); M. Catalán González (Servicio de Farmacología Clínica, Clínica Universitaria de Navarra); M. A. Cos Cossío (Servicio de Farmacología Clínica, Hospital Marqués de Valdecilla, Santander); C. Felipe Fernández (Organización Nacional de Trasplantes); J. I. García García

(Servicio de Cirugía, Hospital 12 de Octubre, Madrid); L. Grande Poza (Servicio de Cirugía, Hospital Clinic i Provincial, Barcelona); L. Pou Clavé (Servicio de Bioquímica, Hospital Vall d'Hebrón, Barcelona); M. Rengel Aranda (Servicio de Nefrología, Hospital Gregorio Marañón, Madrid); M. Rodamilans Pérez (Servicio de Bioquímica, Hospital Clinic i Provincial, Barcelona); D. Serón Micas (Servicio de Nefrología, Hospital de Bellvitge, Hospitalet de Llobregat); F. Serrano Gómez (Servicio de Hematología, Hospital La Princesa, Madrid); T. Torres (Laboratorio de Nefrología, Clínica Puerta de Hierro, Madrid); J. J. Villafruela (Laboratorio de Nefrología, Hospital Ramón y Cajal, Madrid).

Agradecemos a los Laboratorios Abbott el haber hecho posible que esta reunión se llevase a cabo y el interés mostrado en todo momento por el buen desarrollo del proyecto.

Introducción

En los últimos años, a la par que asistimos al creciente desarrollo tecnológico y de investigación en ciencias básicas, se ha avanzado en el conocimiento de la ciclosporina a través de diferentes metodologías.

Esta actividad investigadora ha permitido acceder a múltiple información; así, se ha conocido la conformación de la molécula en diferentes soluciones⁸; se ha descubierto la existencia de al menos dos vías metabólicas, una principal y una alternativa, esta última posiblemente implicada en la formación de metabolitos cíclicos, más tóxicos, y que se vería potenciada en determinadas situaciones patológicas⁹⁻¹¹; se han identificado más de 41 metabolitos diferentes del fármaco⁸ y se ha descubierto que algunos poseen actividad inmunosupresora en cuantía variable y que existe un sinergismo entre la molécula madre de ciclosporina y los metabolitos que estaría implicado en la toxicidad del fármaco¹²⁻¹⁸.

Entre los diferentes métodos de medida, consideramos la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) como el método de referencia para la medición específica de la droga cuando está bien validado¹⁹⁻²¹, en total acuerdo con la mayoría de las publicaciones especializadas. La recuperación analítica absoluta del fármaco debe ser superior al 80% y una recuperación relativa respecto a un estándar interno en el rango de 90-110%. Aun así, los resultados obtenidos presentan una gran variabilidad entre centros incluso comparando programas cualificados²²; el tiempo requerido para la obtención de resultados y la necesidad de un personal técnico cualificado hacen que este método no sea de utilidad clínica. El desarrollo de técnicas más simples con suficiente sensibilidad, amplio rango de efectividad y buena correlación con el HPLC ha desplazado a esta técnica en la práctica clínica.

La monitorización por inmunoensayos no selectivos es la única práctica en la que los metabolitos contribuyen de forma significativa en la medición del fármaco, sobrestimando los niveles.

mando su concentración en cuantías variables según la técnica utilizada, alrededor del 29 % con RIA y del 36 % con FPIA, según Rosano y cols.²³; otros autores obtienen sobrestimaciones similares^{16,24}. Sin embargo, es difícil establecer qué cambios en la concentración de metabolitos reflejan toxicidad, teniendo en cuenta que el patrón metabólico no es constante²⁵ y que las condiciones fisiológicas del paciente pueden alterar el metabolismo del citocromo P450 y la biotransformación de la droga²⁶. A pesar de ello, muchos equipos son partidarios de la utilización de estos métodos al menos es algunas situaciones²⁷⁻²⁹.

La monitorización por inmunoensayos selectivos^{16,30-38}, anticuerpos monoclonales específicos³⁹, tanto RIA como FPIA, presenta una especificidad del 100 % para la ciclosporina y una reacción inferior al 8 % con los diferentes metabolitos y permiten una mejor transmisión de información entre los centros. Existe un gran número de publicaciones que comparan los diferentes métodos disponibles⁴⁰⁻⁴⁷.

El estudio de la actividad biológica del fármaco y de sus metabolitos es complejo, al no existir un modelo animal superponible al humano. Los estudios *in vitro* (reconocimiento por ciclofilina, inhibición de la proliferación de células mononucleares humanas de sangre periférica inducidas por alfa-CD3, inhibición de la síntesis de interleukina-II/RNA_m en células mononucleares en sangre periférica, etc.) pueden no reflejar el proceso patológico *in vivo*^{12,48-50}.

En el hombre sabemos que existe una gran variabilidad farmacocinética inter e intraindividual^{11,16,51-53} y que son muchos los parámetros que influyen sobre la monitorización de ciclosporina⁵⁴. La biodisponibilidad oral del fármaco puede ser tan baja como el 10 %, pero normalmente se aproxima al 30 %^{26,55}, estando influenciada por factores como el flujo y la composición de la bilis^{56,57}, la motilidad intestinal⁵⁸, el hábito alimenticio⁵⁹ y la duración del tratamiento⁶⁰, entre otros.

El carácter hidrofóbico de la molécula de ciclosporina es el principal responsable de su distribución en los diversos compartimentos sanguíneos⁶¹: 60 % en el hematíe, 5 % en los granulocitos, 5 % en los linfocitos y 30 % en el plasma, del cual el 21 % está unido a las lipoproteínas⁶², el 7 % a proteínas y un 2 % se encuentra como ciclosporina libre; otras variables, como son la temperatura, el hematócrito y la concentración de metabolitos, influyen en su distribución^{54,63,64}. Esta anárquica distribución condiciona directamente el tipo de muestra a analizar.

Parece lógico, después de considerar las numerosas variables que pueden influir en la determinación, que es necesario hacer un intento de estandarización, y a tal efecto las personas reunidas en esta conferencia de consenso consideran aconsejable que la determinación se realice en sangre total^{6,7,16,65}, utilizado como anticoagulante EDTA^{66,67}. En el caso de que la muestra no pueda ser procesada en el momento de su obtención, algunos estudios admiten que ésta es estable al menos durante una sema-

na, conservada bien a temperatura ambiente, bien entre 2 y 8 °C⁶⁸.

La característica lipofilia de la molécula de ciclosporina es responsable de su adsorción a los materiales plásticos⁶⁹, siendo necesario evitar la obtención de muestras de vías por donde se ha procedido a su infusión.

Se describen en cantidad creciente, interacciones farmacológicas de la ciclosporina con otros fármacos, generalmente por acciones a nivel del citocromo P450-IIIa, aunque muchas veces se desconoce el mecanismo⁷⁰⁻⁷². Todos los participantes en la conferencia coinciden en señalar esta interferencia como una razón más para monitorizar los niveles de este fármaco.

La variación en la biodisponibilidad oral de la ciclosporina cuando ésta se diluye en diferentes líquidos de administración hace aconsejable que este líquido sea constante para cada paciente⁷³.

El estrecho margen terapéutico hace necesaria la monitorización de ciclosporina^{3,74}. El hecho de que la inmunosupresión/toxicidad inherente a los metabolitos de la ciclosporina no haya sido clarificada^{17,75-77} implica que muchos equipos piensen que hasta que no exista una documentación inequívoca de que no son activos se deben utilizar métodos no selectivos al menos en algunas situaciones patológicas⁷⁸.

La multitoxicidad del fármaco está ampliamente documentada en la literatura^{19,26,49,79,80} y ha sido uno de los motores principales de su constante estudio; en virtud de ello se han desarrollado múltiples protocolos de inmunosupresión que tienen su máxima representatividad en el trasplante renal, al ser este órgano el más afectado. La supervivencia del injerto según los distintos protocolos es superponible^{81,82}: doble terapia con CsA y prednisona^{83,84}; triple terapia con CsA, prednisona y azatioprina o globulina antitumoral⁸⁵⁻⁸⁷; terapia secuencial con cuatro drogas: CsA, prednisona, azatioprina y globulina antitumoral⁸⁸; la utilización profiláctica de OKT3⁸⁹; utilización de OKT3 o globulina antilinfocítica inicialmente en pacientes oligoanúricos hasta la recuperación de la función renal e introducción de CsA a partir del octavo día⁹⁰; añadir al protocolo inmunosupresor calcioantagonistas para prevenir/mejorar la nefrotoxicidad de la ciclosporina⁹¹, o bien el tratamiento de monoterapia con ciclosporina⁹²⁻⁹⁵, etc., y no existe documentación, en el momento actual, para preponderar un protocolo determinado; sin embargo, se pone de manifiesto la tendencia a disminuir las dosis de ciclosporina desde estadios precoces y en algunos equipos su sustitución a plazo medio/largo por otro inmunosupresor en virtud de la toxicidad crónica observada.

Esta toxicidad crónica a largo plazo y dosis bajas es uno de los motivos para monitorizar la droga cuando ésta se utiliza en el tratamiento de enfermedades de supuesta base autoinmune⁹⁶⁻¹⁰³.

En el trasplante cardíaco, las iniciales dosis altas de 12-18 mg/kg/día, que conducían a una elevada nefrotoxicidad¹⁰⁴, han sido reducidas a dosis orales entre 5 y 10 mg/kg/día^{105,106} de introducción variable: desde dosi-

ficación preoperatorias¹⁰⁷, práctica que conllevaba un elevado número de problemas renales y hemodinámicos durante el postoperatorio inmediato, y ha sido abandonada por muchos grupos, sin que se haya observado un aumento del índice de rechazos¹⁰⁸, hasta retrasar su inicio a que la función renal y la situación hemodinámica estén estabilizadas, utilizando durante estos días, junto a los corticoides y azatioprina, anticuerpos monoclonales o policlonales antilinfocíticos¹⁰⁹. La dosificación posterior de la ciclosporina dependerá de los niveles sanguíneos y los efectos tóxicos, fundamentalmente los renales. La tendencia habitual es a conseguir niveles más elevados en los primeros meses postrasplante para ir descendiendo a partir del cuarto-sexto mes^{7, 105}.

La ciclosporina se ha utilizado desde el inicio en la mayoría de los programas de trasplante hepático. La experiencia ha permitido no sólo abordar pacientes con más riesgo —prácticamente las únicas contraindicaciones son el alcoholismo activo y el carcinoma con metástasis— y de edades más extremas —niños de edad inferior al año—, sino mejorar el régimen inmunosupresor. En el momento actual, la mayoría de los grupos realizan un tratamiento con dosis bajas de prednisona, azatioprina y ciclosporina; el cambio de la vía endovenosa a la vía oral se realiza tan pronto como el paciente obtiene la tolerancia oral, lo cual suele coincidir con el clampaje del drenaje biliar. Los ajustes de las dosis de ciclosporina se realizan según la monitorización de los niveles y el funcionalismo hepático y renal a las mínimas dosis aceptables⁸⁰. Varios estudios coinciden en señalar que la monitorización de ciclosporina en el trasplante hepático es particularmente compleja al ser éste el órgano responsable de su metabolización y permanecer sin respuesta el papel de la toxicidad e inmunosupresión de los metabolitos^{78, 110, 111}.

El uso de la ciclosporina es de importancia incuestionable en la prevención y tratamiento de la enfermedad aguda injerto contra huésped tras el trasplante de médula ósea, tan efectiva como el metotrexate en la prevención¹¹² y que la 6-metilprednisolona en el tratamiento¹¹³. Varios estudios^{114, 115} encuentran correlación entre la concentración de ciclosporina postrasplante y la incidencia de enfermedad aguda injerto contra huésped. En cada paciente, la inmunosupresión necesaria depende del grupo de riesgo en el que se halle incluido, según una serie de variables que engloban, entre otros datos, la edad, el régimen profiláctico de la enfermedad injerto contra huésped y el momento del tratamiento. La correlación entre monitorización de ciclosporina y clínica no parece que se inflencie por los métodos de determinación utilizados^{116, 117}.

Por tanto, la inmunosupresión necesaria varía atendiendo al/los órgano/s trasplantado/s. Evidentemente, la inmunosupresión y, por ende, los niveles «terapéuticos» varían según el momento de evolución postrasplante.

Es sentir común de todos los asistentes a esta conferencia que la determinación de ciclosporina es un parámetro más a la hora de valorar una situación clínica con-

creta¹¹⁸, tanto de sospecha de toxicidad como de eficacia inmunosupresora. Buscando la forma más fiable de controlar la terapia con ciclosporina, distintos equipos han intentado relacionar diferentes momentos en la determinación de ciclosporina con el buen funcionamiento de los órganos trasplantados. Entre estas determinaciones destacan: el nivel valle predosis¹¹⁹, la determinación más alta a las cinco-seis horas después de la última dosis, el incremento de concentración pico versus concentración valle o la determinación de múltiples muestras para determinar un área y la concentración media^{120, 121}. Los estudios farmacocinéticos también son defendidos por algunos grupos^{122, 123} y se consideran de utilidad clínica limitada por otros¹²⁴.

Todos los asistentes a la conferencia consideran que, con independencia del momento de la determinación, por encima está la calidad, la fiabilidad de los datos; por ello parece aconsejable que todos aquellos centros que realicen determinaciones de ciclosporina estén sometidos a un control de la calidad de sus resultados tanto interna como externamente^{24, 67, 125, 126}. En esta línea sería interesante que las sociedades científicas españolas relacionadas con este tema, a saber, Sociedades de Química Clínica, Análisis Clínicos y Biopatología, favoreciesen la posibilidad de contrastar pareceres sobre los diferentes métodos de monitorización de la ciclosporina e iniciasen y tutelasen, en la medida de sus posibilidades, un control de calidad a nivel nacional de los resultados analíticos, al igual que lo realizan con otros parámetros más generales.

En resumen, y teniendo en mente el importante número de variables susceptibles de ser manejadas, la individualidad del bien hacer de cada profesional, la investigación puntual de situaciones concretas y el deseo de que en un futuro se desarrollen nuevas tecnologías orientadas a determinar actividad inmunosupresora, recomendamos que se tengan en cuenta las siguientes consideraciones, resumen de lo ya expuesto, a la hora de valorar/interpretar los niveles de ciclosporina:

Consenso nacional de ciclosporina

1. Se recomienda la monitorización de la ciclosporina cuando su administración sea necesaria debido a: 1) las diferencias farmacocinéticas intra e interindividuales; 2) las interacciones farmacológicas; 3) evitar efectos tóxicos, y 4) asegurar el cumplimiento terapéutico.

2. La frecuencia máxima de monitorización recomendada será de una vez al día.

3. Se recomienda la determinación de niveles predosis. Cada hospital debe vigilar que la extracción se realice antes de la dosis de la mañana y por la vía adecuada, teniendo en cuenta que no se obtendrá la muestra de la vía utilizada para la infusión de ciclosporina. Si se emplea una vía de perfusión, se aplicarán las normas generales para la utilización de vías de infusión como fuente de obtención de muestras para determinación analítica.

4. La determinación se realizará en sangre total obtenida en ayudas. El anticoagulante recomendado, EDTA dipotásico, y el transporte se podrá efectuar a temperatura ambiente en tubo de vidrio o polipropileno. La ciclosporina así almacenada es estable al menos siete días.

5. Se recomienda que la posología de ciclosporina se efectúe fraccionando la dosis diaria en una toma cada doce horas.

6. Es aconsejable que la administración de ciclosporina se realice una hora antes o dos horas después de la ingesta o de fármacos que interfieran con su absorción.

7. En la administración intravenosa se aconseja un tiempo mínimo de perfusión de dos horas y es recomendable se realice en el máximo tiempo posible (inferior a doce horas).

8. La ciclosporina oral se puede administrar con diferentes líquidos (zumo, leche). Se recomienda que sea constante para cada individuo.

9. En pacientes críticos se recomienda que se tenga el resultado de la determinación antes de la siguiente dosis.

10. La dosis inicial depende del tipo de patología que presente el paciente y la pauta inmunosupresora utilizada. Se recomienda que los ajustes de dosis posteriores se realicen según los niveles de ciclosporina obtenidos.

11. No es posible definir un rango terapéutico aconsejable, pues variará según la indicación terapéutica; en el caso del trasplante según el órgano injertado, el período evolutivo y el método utilizado para su determinación.

12. El laboratorio debe conocer para cada determinación: la dosis/kilo, el tiempo transcurrido desde el último cambio de dosis y el tiempo transcurrido desde la última dosis administrada hasta la extracción de la muestra.

13. Metodología:

— Se aconseja como método de referencia y de experimentación clínica: cromatografía líquida de alta presión (HPLC).

— Como metodología de utilidad clínica habitual se aconseja una técnica que comporte el uso de un anticuerpo monoclonal específico en tanto no se sepa la actividad tóxica e inmunosupresora de los metabolitos de la ciclosporina.

14. Recomendamos que, acompañando a la determinación de ciclosporina, se reseñe el método utilizado para su determinación.

15. El laboratorio donde se realicen las determinaciones de ciclosporina estará sujeto a un control de calidad interno y a un programa de control de calidad externo.

Agradecimientos

Agradecemos a: M. Anguita Sánchez (Hospital Reina Sofía, Córdoba), M. Catalán González (Clínica Universitaria de Navarra), M. A. de Cos Cossío (Hospital Marqués de Valdecilla, Santander), L. Grande Posa (Hospital Clínic i Provincial, Barcelona), L. Pou Clavé (Hospital Vall d'Hebron, Barcelona), F. Serrano Gómez (Hospital La Princesa, Madrid) y T. Torres (Clínica Puerta de

Hierro, Madrid) su contribución a la redacción del texto con sus sugerencias y aporte bibliográfico.

Bibliografía

1. European Multicentre Trial Group (1983): Cyclosporin in cadaveric renal transplantation. One year follow-up of a multicentre trial. *Lancet*, 2:986-989, 1986.
2. The Canadian Transplant Study Group: Examination of parameters influencing the benefit: Detriment ratio of cyclosporine in renal transplantation. *Am J Kidney Dis*, 5:328-332, 1985.
3. Bowers LD: Therapeutic monitoring for cyclosporine: Difficulties in establishing a therapeutic window. *Clin Biochem*, 24:81-87, 1991.
4. Lindholm A: A prospective study of cyclosporine monitoring in renal transplantation. *Transplant Proc*, 22:1260-1263, 1990.
5. Shaw LM, Audet PR, Grossman RA, Fields L, Lensmeyer L y Dafoe DC: Adjustment of cyclosporine dosage in renal transplant patients based on concentration measured specifically in whole blood: Clinical outcome results and diagnostic utility. *Transplant Proc*, 22:1267-1273, 1990.
6. Kahan BD, Shaw LM, Holt D, Grevel J y Johnston A: Consensus document: Hawk's Cay Meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Clin Chem*, 36:1510-1516, 1990.
7. Shaw LM, Yatscoff RW, Bowers LD, Freeman DJ, Jeffrey JR, Keown PA, McGliveray IJ, Rosano TG y Wong P: Canadian consensus meeting on cyclosporine monitoring: Report of the consensus panel. *Clin Chem*, 36:1841-1846, 1990.
8. Wenger RM: Structures of cyclosporine and its metabolites. *Transplant Proc*, 22:1104-1108, 1990.
9. Sewing KF, Christians U, Kohlhaw H, Radeke H, Strohmeyer S, Kownatzki R, Budniak J, Schottmann R, Bleck JS, Almeida VMF, Deters M, Wonigeit K y Pichlmayr R: Biologic activity of cyclosporine metabolites. *Transplant Proc*, 22:1129-1134, 1990.
10. Halloran PF y Madrenas J: The mechanism of action of cyclosporine: A perspective for the 90's. *Clin Biochem*, 24:3-7, 1991.
11. Freeman DJ: Pharmacology and pharmacokinetics of cyclosporine. *Clin Biochem*, 24:9-14, 1991.
12. Fahr A, Hiestand P y Ryffel B: Studies on the biologic activities of Sandimmun metabolites in humans and in animal models: review and original experiments. *Transplant Proc*, 22:1116-1124, 1990.
13. Bowers LD: Studies of cyclosporine and metabolite toxicity in renal and hepatocyte culture systems. *Transplant Proc*, 22:1135-1136, 1990.
14. Donatsch P, Rickenbacher U, Ryffel B y Brouillard JF: Sandimmun metabolites: Their potential to cause adverse reactions in the rat. *Transplant Proc*, 22:1137-1140, 1990.
15. Copeland KR y Yatscoff RW: Immunosuppressive activity and toxicity of cyclosporine metabolites characterized by mass spectroscopy and nuclear magnetic resonance. *Transplant Proc*, 22:1146-1149, 1990.
16. Shaw LM: Advances in cyclosporine pharmacology, measurement and therapeutic monitoring. *Clin Chem*, 35 (7):1299-1308, 1989.
17. Yatscoff RW, Rosano TG y Bowers LD: The clinical significance of cyclosporine metabolites. *Clin Biochem*, 24:23-35, 1991.
18. Rush DN: Cyclosporine toxicity to organs other than the kidney. *Clin Biochem*, 24:101-105, 1991.
19. Bowers LD: Cyclosporine analysis by high-performance liquid chromatography: precision, accuracy and minimum detectable quantity. *Transplant Proc*, 22:1150-1154, 1990.
20. Hamilton G, Roth E, Wallisch E y Tischy F: Semi-automated high-performance liquid chromatographic determination of cyclosporine A in whole blood using one-step sample purification and column switching. *J Chromatogr*, 341:411-419, 1985.
21. Sawchuk RJ y Cartier LL: Liquid chromatographic determination of cyclosporin A in blood and plasma. *Clin Chem*, 27 (8):1368-1371, 1981.
22. Holt DW, Marsden JT y Johnston A: Quality assessment of cyclosporine measurements: comparison of current methods. *Transplant Proc*, 22:1234-1239, 1990.

C. FELIPE y cols.

23. Rosano TG, Brooks CA, Dybas MT, Cramer SM, Stevens C y Freed BM: Selection of an optimal assay method for monitoring cyclosporine therapy. *Transplant Proc*, 22:1125-1128, 1990.
24. Johnston A, Marsden JT y Holt DW: The continuing need for quality assessment of cyclosporine measurement. *Clin Chem*, 35 (7):1309-1312, 1989.
25. Rogers AJ, Yoshimura N, Karman RH y Kahan BD: Immunopharmacodynamic evaluation of cyclosporine-treated renal allograft recipients. *Transplantation*, 38:657-664, 1984.
26. Groen PC: Cyclosporine and the liver: How one affects the other. *Transplant Proc*, 22:1197-1202, 1990.
27. Lensmeyer GL, Wiebe DA, Carlson IH y De Vos DJ: Three commercial polyclonal immunoassays for cyclosporine in whole blood compared: 2. Cross-reactivity of the antisera with cyclosporine metabolites. *Clin Chem*, 36 (1):119-123, 1990.
28. Haven MC, Sobeski LM, Earl RA y Markin RS: Cyclosporine concentrations in blood after liver transplantation: Correlation of immunoassay. Results with clinical events. *Clin Chem*, 35 (4):564-568, 1989.
29. Sadeg N, Pham Huy C, Postaire M, Claude JR y Hamon M: Clinical utility of cyclosporine concentrations determined in recipients of small-bowel transplant by HPLC and fluorescence polarization immunoassay. *Clin Chem*, 37 (2):291, 1991.
30. Plebani M, Masiero M, Paleari CD, Faggian D y Burlina A: Evaluation of the incstar Cyclo-trac sp Kit for the determination of cyclosporine in blood. *Clin Biochem*, 22:345-347, 1989.
31. Wang PP, Simpson E, Meucci V, Morrison M, Linetta S, Zajac M y Boeckx R: Cyclosporine monitoring by fluorescent polarization immunoassay. *Clin Biochem*, 24:55-58, 1991.
32. Lee SC, Brudzinski AM, Yasmineh JL, Johanson NJ, Ferber IA, Maas LK, Wong PY, Keown PA y Orf JW: Measurement of cyclosporine A by a specific radioimmunoassay with a monoclonal antibody and 125-I tracer. *Clin Biochem*, 24:43-48, 1991.
33. Hansen JB, Lau HP, Janes CJ, Lehane DP y Miller WK: A rapid and specific assay for the du Pont aca discrete clinical analyzer, performed directly on whole blood. *Transplant Proc*, 22:1189-1192, 1990.
34. Wang P, Meucci V, Simpson W, Morrison M, Lunetta S, Zajac M y Boeckx R: A monoclonal antibody fluorescent polarization immunoassay for cyclosporine. *Transplant Proc*, 22:1186-1188, 1990.
35. Lau HP, Moller WK, Hansen JB y Bollin E: Automated assay specific for cyclosporine in whole blood, with use of a chromium dioxide particle column. *Clin Chem*, 35 (9):1860-1861, 1989.
36. Kyne F, Maguire S, O'Broin S, McGing P, McCann S y Wright E: Abbott TDx «Selective» assay overestimates cyclosporine in whole blood. *Clin Chem*, 37 (9):1657-1658, 1991.
37. Yatscoff RW, Copeland KR y Faraci CJ: Abbott TDx monoclonal antibody assay evaluated for measuring cyclosporine in whole blood. *Clin Chem*, 36 (11):1969-1973, 1990.
38. Moyer TP, Winkels J, Krom R y Wiesner R: Evaluation of Abbott TDx assay of cyclosporine in whole blood. *Clin Chem*, 37 (6):1120-1121, 1991.
39. Quesniaux VFJ: Monoclonal antibody technology for cyclosporine monitoring. *Clin Biochem*, 24:37-42, 1991.
40. McBride JH, Rodgeron DO, Park SS y Reyes AF: Measurement of cyclosporine in plasma from patients with various transplants: HPLC and radioimmunoassay with a specific monoclonal antibody compared. *Clin Chem*, 35(8):1726-1730, 1989.
41. Lindholm A y Henricsson S: Simultaneous monitoring of cyclosporin in blood and plasma with four analytical methods: A clinical evaluation. *Transplant Proc*, 21:1472-1474, 1989.
42. Wallemacq PE, Mücke K, De Somer M, Squifflet JP, Otte JB, Goenen M, Ferrant A y Jacqmin PA: Comparison of a fluorescence polarization immunoassay and radioimmunoassay for quantitation of cyclosporine A in organ transplantation. *Transplant Proc*, 21:888-891, 1989.
43. Loo JCK, Gallicano KD, McGilveray IJ, Beaudoin N y Jundal SL: Monitoring of blood levels of cyclosporine in renal and cardiac transplant recipients. Comparison of HPLC to Incstar CYCLO-Trac SP RIA. *Clin Biochem*, 24:49-53, 1991.
44. Specific and nonspecific monoclonal 125-I-Incstar assays. *Transplant Proc*, 22:1166-1170, 1990.
45. Napoli KL y Kahan BD: Nonselective measurement of cyclosporine for therapeutic drug monitoring by fluorescence immunoassay with a rabbit polyclonal antibody: I. Evaluation of the serum methodology and comparison with a sheep polyclonal antibody in an 3H-tracer mediated radioimmunoassay. *Transplant Proc*, 22:1175-1180, 1990.
46. Sridhar N, Schroeder TJ, Pesce AJ y First MR: Clinical correlations of cyclosporine HPLC and FPIA levels in renal transplant recipients. *Transplant Proc*, 22:1257-1259, 1990.
47. Sabater J, Quereda C, Marcen R, Orofino L, Herrera I, Núñez ML, Villafruela JJ y Ortuño J: Comparative study of different methods for measuring blood cyclosporine A levels in kidney transplant. *Transplant Proc*, 22 (4):1720-1722, 1990.
48. Lorber MI, Paul K, Harding MW, Handschumacher RE y Marks WH: Cyclophilin binding: A receptor-mediated approach to monitoring cyclosporine immunosuppressive activity following organ transplantation. *Transplant Proc*, 22:1240-1244, 1990.
49. Thliveris JA, Yatscoff RW, Lukowski MP y Copeland KR: Cyclosporine nephrotoxicity-experimental models. *Clin Biochem*, 24:93-95, 1991.
50. Küllinger B, Steiner G y Woloszczuk W: Immunosuppressive properties of cyclosporin metabolites. *Lancet*, 2:333-334, 1989.
51. Lemaire M, Fahr A y Maurer G: Pharmacokinetics of cyclosporine: Inter and intra-individual variations and metabolic pathways. *Transplant Proc*, 22:1110-1112, 1990.
52. Lindholm A, Henricsson S, Lind M y Dahlqvist R: Intraindividual variability in the relative systemic availability of cyclosporin after oral dosing. *Eur J Clin Pharmacol*, 34:461-464, 1988.
53. Kahan BD: Drug therapy: cyclosporine. *N Engl J Med*, 321:1725-1738, 1989.
54. Humbert H, Vermillet L, Cabiac MD y Billaud E: Influence of different parameters for the monitoring of cyclosporine. *Transplant Proc*, 22:1210-1215, 1990.
55. Grevel J: Absorption of cyclosporine A after oral dosing. *Transplant Proc*, 18:9-15, 1986.
56. Naoumen NV, Tredger JM, Steward CM, O'Grady JG, Grevel J, Niven A, Whiting B y Williams R: Cyclosporin A pharmacokinetics in liver transplant recipients in relation to biliary T-tube clamping and liver dysfunction. *Gut*, 30:391-396, 1989.
57. Mehta MU, Venkataraman R, Burckart CJ, Ptachcinski RJ, Delamos B, Stachak S, Van Thiel DH, Iwatsuki S y Starzl TE: Effect of bile on cyclosporin absorption in liver transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*, 25:579-584, 1988.
58. Wadhwa NK, Schroeder TJ, O'Flaherty E, Pesce AJ, Myre SA y First MR: The effect of oral metoclopramide on the absorption of cyclosporine. *Transplantation*, 43:211-213, 1987.
59. Honcharik NR: The effect of food on cyclosporine absorption. *Clin Biochem*, 24:89-92, 1991.
60. Tufreson G, Frondin L, Lindberg A, Lindström B, Lithell H, Odland B, Selinus I, Sjöberg O y Tötterman T: Why can we reduce the dose of cyclosporine with time after transplantation and how can we predict its clearance. *Transplant Proc*, 18:1264-1265, 1986.
61. Niederberger W, Lemaire M, Nussbaumer K y cols.: Distribution of cyclosporine in blood components and tissues. *Transplant Proc*, 15:2419-2421, 1988.
62. Awni WM, Heim-Duthoy K y Kasiske BL: Impact of lipoproteins on cyclosporine pharmacokinetics and biological activity in transplant patients. *Transplant Proc*, 22:1193-1196, 1990.
63. Lensmeyer GL, Wiebe DA y Carlson IH: Distribution of cyclosporine A metabolites among plasma and cells in whole blood: Effect of temperature, hematocrit, and metabolite concentration. *Clin Chem*, 35 (1):56-63, 1989.
64. Rosenthaler J y Keller HP: Comment on cyclosporine assay techniques: An attempt for recommendations. *Transplant Proc*, 22:1160-1165, 1990.
65. Vermillet L, Humbert H, Aupetit B, Berard M, Bertault-Peres P, Billaud E, Bizollon CA, Breteau M, Brisson AM, Codet JP, Dessaint JP, Deltour G, Dousset B, Fabre J, Galland F, Hamberger C, Lokiec F, Moati F, Offner M, Pape D y Remi JP: French multicentre study:

- Comparison of two specific and four nonspecific methods for sandimmune (cyclosporine) blood and plasma (separated at 37° C or at 22° C) monitoring. *Transplant Proc*, 22:1218-1223, 1990.
66. Potter JM: Cyclosporin A: variation in whole blood levels related to in vitro anticoagulant usage. *Ther Drug Monit*, 8:122-125, 1986.
 67. National Academy of Clinical Biochemistry/American Association for Clinical Chemistry: Critical issues in cyclosporine monitoring: Report of the task force on cyclosporine monitoring. *Clin Chem*, 33:1269-1288, 1987.
 68. Johnston A, Cullen G y Holt DW: Quality assurance for cyclosporin assays in body fluids. *An Acad Med*, 20 (1):3-5, 1992.
 69. Blifield C y Ettenger RB: Measurement of cyclosporine levels in samples obtained from peripheral sites and indwelling lines. *N Engl J Med*, 317:509, 1987.
 70. Yee GC: Pharmacokinetic interactions between cyclosporine and other drugs. *Transplant Proc*, 22:1203-1207, 1990.
 71. Yee GC y McGuire TR: Pharmacokinetic drug interactions with cyclosporin (Part I). *Clin Pharmacokinet*, 19 (4):319-332, 1990.
 72. Yee GC y McGuire TR: Pharmacokinetic drug interactions with cyclosporine (Part II). *Clin Pharmacokinet*, 19 (5):400-415, 1990.
 73. Johnston A, Marsden JT, Hla KK, Henry JA y Holt DW: The effect of vehicle on the oral absorption of cyclosporin. *Br J Clin Pharmacol*, 21:331-333, 1986.
 74. Ptachcinski RJ, Burckart GJ y Venkataramanan R: Cyclosporine concentration determinations for monitoring and pharmacokinetic studies. *J Clin Pharmacol*, 26:358-366, 1986.
 75. Shaw LM: Cyclosporine monitoring. *Clin Chem*, 35 (1):5-6, 1989.
 76. Shaw LM: Cyclosporine metabolites: Are they active? *Clin Chem*, 36 (2):187, 1990.
 77. Copeland KR, Thliveris JA y Yatscuff RW: Toxicity of cyclosporine metabolites. *Ther Drug Monit*, 12 (6):525-532, 1990.
 78. Wonigeit K, Kahlhaw K, Winkler M, Schaefer O y Pichlmayr R: Cyclosporine monitoring in liver allograft recipient: Two distinct patterns of blood level derangement associated with nephrotoxicity. *Transplant Proc*, 22:1305-1311, 1990.
 79. Mason J: Renal side-effects of cyclosporine. *Transplant Proc*, 22:1280-1283, 1990.
 80. Gunson BK, Jones SR, Buckels JAC, Jain AB y McMaster P: Liver transplantation in Birmingham. Use of cyclosporine-clinical correlations with drug measurements. *Transplant Proc*, 22:1312-1318, 1990.
 81. Alsina J: Comparación de distintos protocolos de inmunosupresión en trasplantes renales. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 103-108). Sandoz.
 82. Morales JM y Andrés A: Inmunosupresión en el trasplante. *Jano*, XLI:97-133, 1991.
 83. Ortuño J, Marcén R, Quereda C, Teruel JL, Liaño F, Orofino L, Orte L y Matesanz R: Importancia de las transfusiones y el HLA en la era ciclosporina. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 109-113). Sandoz.
 84. Prieto C: Dosis bajas de ciclosporina en el trasplante renal: Resultados a largo plazo. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 97-101). Sandoz.
 85. Pallardo LM: Dosis bajas de ciclosporina en el trasplante renal. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 31-36). Sandoz.
 86. Arias M, Canga E, Zubimendi JA, De Bonis E, De Francisco AML, Sanz S y Cotruello JG: Ciclosporina en la fase inicial del trasplante renal: Experiencia personal. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 45-53). Sandoz.
 87. Grinó JM, Castelao AM, Sabaté I, Mestre M, Gil-Vernet S, Andrés E, Sabater R y Alsina J: Globulina antilinfocítica, ciclosporina y esteroides en el trasplante renal. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 37-53). Sandoz.
 88. Sommer BC, Henry ML y Ferguson MR: Sequential conventional immunotherapy with maintenance cyclosporine following renal transplantation. *Transplant Proc*, 18:69-75, 1986.
 89. Norman DJ: Early use of OKT3 monoclonal antibody in renal transplantation to prevent rejection. *Am J Kidney Dis*, XI (2):107-110, 1988.
 90. Lloveras J: Estudio de los empeoramientos de la función renal en el postrasplante tardío de pacientes inmunodeprimidos con ciclosporina. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 77-85). Sandoz.
 91. Morales JM, Andrés A, Alvarez C, Prieto C, Ortuño B, Ortuño T, Paternina ER, Hernández Poblete G, Praga M, Ruilope LM y Rodicio JL: Calcium channel blockers and early cyclosporine nephrotoxicity after renal transplantation: A prospective randomized study. *Transplant Proc*, 22:1733-1735, 1990.
 92. Andreu J, Oppenheimer F, Campistol JM, Ricart MJ, Vilardell J, Almirall J y Carretero P: Monoterapia con ciclosporina en el trasplante renal. Symposium Cyclosporina en Trasplante Renal. Estambul, 23 febrero 1989 (pp. 71-76). Sandoz.
 93. Land W: For the European Multicentre Trial Group. Cyclosporine in cadaveric renal transplantation: five years follow-up results of the European Multicentre Trial. *Transplant Proc*, 20 (N.º 3, Supl. 3):73-80, 1988.
 94. Johnson RWG: Cyclosporine in cadaveric renal transplantation: Three-years follow-up of a European Multicentre Trial. *Transplant Proc*, 18:1229-1233, 1986.
 95. Calne RY: For the European Multicentre Trial Group. Cyclosporine in cadaveric renal transplantation: 5 year follow-up of a multicentre trial. *Lancet*, 2:506-507, 1987.
 96. Bach JF: Cyclosporine in autoimmune diseases. *Transplant Proc*, 21:97-113, 1989.
 97. Nussenblatt RB, Palestine AG y Chan CC: Cyclosporin A therapy in the treatment of intraocular inflammatory disease resistant to systemic corticosteroids and cytotoxic agents. *Am J Ophthalmol*, 96:275-282, 1983.
 98. Forre O, Bjerkehoel F, Salvesen CF, Berg KJ, Rugstad HE, Saelid G, Mellbye OJ y Kass E: An open, controlled, randomized comparison of cyclosporine and azathioprine in the treatment of rheumatoid arthritis: a preliminary report. *Arthritis Rheum*, 30:88-92, 1987.
 99. Lindholm A, Zachariae H, Reitano S, Ibsen HH, Oxholm A, Reunala T y Jansen C: Is cyclosporine blood concentration monitoring necessary in patients treated for severe chronic plaque form psoriasis? *Transplant Proc*, 22:1293-1295, 1990.
 100. Feutren G y Miller C: Low predictive value of cyclosporine level for efficacy or renal dysfunction in psoriasis and idiopathic nephrotic syndrome. *Transplant Proc*, 22:1299-1302, 1990.
 101. Stryckmans PA, Dumont JP, Velu TH y Debusscher L: Cyclosporine in refractory severe aplastic anemia. *N Engl J Med*, 310:655-656, 1984.
 102. Bach JF, Feutren G, Noel LH, Henedouche T, Landais P, Timsit J, Boitard Ch, Bougueres P, Boitard C, Grünfeld JP y Assau R: Factors predictive of cyclosporine-induced nephrotoxicity. The role of cyclosporine blood levels. *Transplant Proc*, 22:1296-1298, 1990.
 103. Ludwin D: Cyclosporine monitoring in autoimmune and other diseases. *Clin Biochem*, 24:97-99, 1991.
 104. Engel J, Greenburg A y Thompson ME: Renal failure in heart transplant patients receiving cyclosporine. *Transplant Proc*, 15:2706-2709, 1983.
 105. Murray KD y Howanitz EP: Perioperative and postoperative management of the heart transplant patient. En Myerowitz PD (ed.). *Heart Transplantation*. Futura Publishing Company Inc. New York, pp. 169-217, 1987.
 106. Hegewald MG, O'Connell JB y Renlund DG: OKT3 monoclonal antibody given for ten versus fourteen days as immunosuppressive prophylaxis in heart transplantation. *J Heart Transplant*, 8:303-310, 1989.
 107. Borel JF: Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. *Agents Action*, 6:468-475, 1976.
 108. Menkis AH, McKenzie FN y Thomson D: Benefits of avoidance of induction immunosuppression in heart transplantation. *J Heart Transplant*, 8:311-314, 1989.
 109. Renlund DG, O'Connell JB y Bristow MR: Early rejection prophylaxis in heart transplantation: is cytolytic therapy necessary? *J Heart Transplant*, 8:191-193, 1989.
 110. Buckart GJ, Jain A, Diven W, Venkataramanan R y Starzl TE: Cyclosporine measurement by FPIA, PC-RIA and HPLC following liver transplantation. *Transplant Proc*, 22:1319-1322, 1990.
 111. Tredger JM, Steward CM y Williams R: Cyclosporine blood levels.

- An evaluation of radioimmunoassay with selective monoclonal or polyclonal antibodies and high-performance liquid chromatography in liver transplant recipients. *Transplantation*, 46:681-686, 1988.
112. Storb R, Deeg HJ, Whitehead J, Appelbaum F, Beatty P, Bensinger W, Buckner CD, Clift R, Doney K, Farewell V, Hansen J, Hill R, Lum L, Martin P, McGuffin R, Sanders J, Stewart P, Sullivan K, Witherspoon R, Yee G y Thomas ED: Methotrexate cyclosporine compared with cyclosporine alone for prophylaxis of acute graft versus host disease after marrow transplantation for leukemia. *N Engl J Med*, 314:729-735, 1986.
 113. Kennedy MS, Deeg HJ, Storb R, Doney K, Sullivan K, Witherspoon RP, Appelbaum FR, Stewart P, Sanders J, Buckner CD, Martin P, Weiden P y Thomas ED: Treatment of acute graft-versus-host disease after allogeneic marrow transplantation. Randomized study comparing corticosteroids and cyclosporine. *Am J Med*, 78:978-983, 1985.
 114. Santos GW, Tutschka PJ y Brookmeyer R: Cyclosporine plus methylprednisolone versus cyclophosphamide plus methylprednisolone as prophylaxis for graft-versus-host disease: a randomized double-blind study in patients undergoing allogeneic marrow transplantation. *Clin Transplant*, 1:21-28, 1987.
 115. Yee GC, Self SG, McGuire TR, Carlin J, Sanders J y Deeg HJ: Serum cyclosporine concentration and risk of acute graft versus host disease after allogeneic marrow transplantation. *N Engl J Med*, 319:65-70, 1988.
 116. Yee GC: Pharmacokinetic and pharmacodynamic studies of cyclosporine in bone marrow transplantation. *Transplant Proc*, 22:1327-1330, 1990.
 117. Atkinson K, Downs K, Ashby M y Biggs J: Clinical correlations with cyclosporine blood levels after allogeneic bone marrow transplantation: An analysis of four different assays. *Transplant Proc*, 22:1331-1334, 1990.
 118. Land W: Comment to the presentation of clinical correlations with drug measurements. *Transplant Proc*, 22:1292, 1990.
 119. Holt DW, Marsden JT, Johnston A, Bewick M y Taube DH: Blood cyclosporin concentrations and renal allograft dysfunction. *Br Med J*, 293:1057-1059, 1987.
 120. Johnston A, Sketris I, Marsden JT, Galustian CG, Fashola T, Taube D, Pepper J y Holt DW: A limited sampling for the measurement of cyclosporine AUC. *Transplant Proc*, 22:1345-1346, 1990.
 121. Kahan BD y Grevel J: Optimizacion of cyclosporine therapy in renal transplantation by a pharmacokinetic strategy. *Transplantation*, 46:631-644, 1988.
 122. Awni WM, Heim-Duthoy K y Kasiske BL: Monitoring of cyclosporine by serial posttransplant pharmacokinetic studies in renal transplant patients. *Transplant Proc*, 22:1343-1344, 1990.
 123. Grevel J, Napoli KL y Hahan BD: Steady-state concentrations of cyclosporine for therapeutic monitoring. *Transplant Proc*, 22:1339-1342, 1990.
 124. Segoloni GP, Triolo G, Squicciarro G, Colla L, Turello E, Aimo G, Pecchi F y Vercellone A: Tailoring cyclosporine according to kinetic profiles: Does it allow a low-dose therapeutic schedule? *Transplant Proc*, 19:1726-1727, 1987.
 125. Takagi H y Uchida K: Japanese conference on cyclosporine blood level monitoring. *Transplant Proc*, 22:1224-1225, 1990.
 126. Wong PY, Mee AV, Glenn J y Keown PA: Quality assessment of cyclosporine monitoring by 32 canadian laboratories. *Clin Biochem*, 24:59-62, 1991.