

IVD In-vitro-Diagnostikum

REF 0373852

Diese Packungsbeilage zum Quantitative Microsphere System (QMS) muss vor Gebrauch aufmerksam gelesen werden. Die Anweisungen in der Packungsbeilage sind entsprechend zu beachten. Wenn von den Anweisungen in dieser Packungsbeilage abgewichen wird, kann die Zuverlässigkeit der Assay-Ergebnisse nicht garantiert werden.

Verwendungszweck

Der QMS® Everolimus-Assay ist für die quantitative Bestimmung von Everolimus in menschlichem Vollblut auf automatischen Analysegeräten für die klinische Chemie vorgesehen.

Der QMS Everolimus-Assay ist als Hilfsmittel bei der Behandlung von Patienten vorgesehen, die in Verbindung mit einer der in der folgenden Tabelle für jedes Land angegebenen Organtransplantationen eine Everolimus-Therapie erhalten. Das Zeichen „X“ in der nachstehenden Tabelle gibt an, wo und für welche Art von Transplantat die Marktzulassung für das Arzneimittel erteilt wurde.

Land	Transplantat			Land	Transplantat		
	Niere	Herz	Leber		Niere	Herz	Leber
Argentinien	X	X	X	Libanon	X	X	X
Australien	X	X		Litauen	X	X	X
Österreich	X	X	X	Luxemburg	X	X	X
Bahrain	X	X	X	Malaysia	X	X	
Belgien	X	X	X	Malta	X	X	X
Brasilien	X	X	X	Niederlande	X	X	X
Bulgarien	X	X	X	Neuseeland	X	X	X
Kanada	X			Norwegen	X	X	X
Chile	X	X	X	Oman	X	X	X
Kolumbien	X	X		Peru	X	X	
Costa Rica	X	X	X	Philippinen	X	X	X
Zypern	X	X	X	Polen	X	X	X
Tschechien	X	X	X	Portugal	X	X	X
Dänemark	X	X	X	Katar	X	X	
Dominikanische Republik	X	X		Rumänien	X	X	X
Ecuador	X	X		Russland	X	X	
Ägypten	X	X	X	Saudi-Arabien	X	X	X
Estland	X	X	X	Singapur	X	X	X
Finnland	X	X	X	Slowakei	X	X	X
Frankreich	X	X	X	Slowenien	X	X	X
Deutschland	X	X	X	Südafrika	X	X	X
Griechenland	X	X	X	Südkorea	X	X	X
Hongkong	X	X	X	Spanien	X	X	X
Ungarn	X	X	X	Schweden	X	X	X
Island	X	X	X	Schweiz	X	X	X
Indien	X	X		Taiwan	X	X	X
Italien	X	X	X	Thailand	X	X	X
Jordanien	X	X		Türkei	X	X	X
Kuwait	X	X		Venezuela	X	X	
Lettland	X	X	X				

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Everolimus ist ein Makrolid-Immunsuppressivum, das durch chemische Modifikation des Naturstoffs Rapamycin gewonnen wird. Rapamycin wird von bestimmten Stämmen von *Streptomyces hygroscopicus* produziert.¹

Behandlungsstrategien mit Immunsuppressiva sind auf die Verhütung der T-Zell-Aktivierung und/oder -Proliferation ausgerichtet. Everolimus wirkt als Proliferationsinhibitor. Auf zellulärer Ebene hemmt Everolimus grundsätzlich die Wachstumsfaktor-stimulierte Zellproliferation, und zwar unabhängig von den beteiligten Zelllinien oder Wachstumsfaktoren. Die Inhibierung ist reversibel, da Everolimus keine zytotoxische Verbindung ist. Everolimus hemmt die T-Zell-Antwort auf Wachstumsfaktoren, die die klonale Expansion von aktivierten T-Zellen blockieren, indem die G1 zu S-Phase inhibiert wird.² Calcineurin-Inhibitoren, Cyclosporin

(CsA) und Tacrolimus verhindern die Aktivierung von T-Zellen durch Hemmung des G0 zu G1-Phasenübergangs. Die unterschiedlichen Wirkmechanismen von Everolimus und Calcineurin-Inhibitoren wie Cyclosporin liefern eine ausreichende Begründung für die pharmakodynamischen Synergie.¹⁻³

Das Monitoring der Everolimus-Konzentration im Blut wird als Hilfsmittel für das Patientenmanagement mit klinischem Einsatz von Everolimus empfohlen.^{4,5} Die bevorzugte Matrix ist Vollblut, weil die Verbindung in therapeutischen Konzentrationen überwiegend in Erythrozyten partitioniert ist. Um die Konzentration von Everolimus im Blut zu messen, wurde Flüssigchromatographie in Kombination mit Massenspektrometrie verwendet.⁶⁻⁸

Verfahrensprinzip

Der QMS Everolimus-Assay ist ein homogener partikelverstärkter turbidimetrischer Immunoassay. Der Assay basiert auf der Konkurrenz des freien Arzneistoffs in der Probe mit dem Arzneistoff auf einem Mikropartikel um die Antikörper-Bindungsstellen des Everolimus-Antikörperreagens. Das Reagens für die Everolimus-beschichteten Mikropartikel agglutiniert in Anwesenheit des Anti-Everolimus-Antikörperreagens schnell, sofern sich kein konkurrierender Arzneistoff in der Probe befindet. Die Geschwindigkeit der Extinktionsänderung wird photometrisch gemessen. Wenn eine Probe zugegeben wird, die Everolimus enthält, wird die Agglutinationsreaktion teilweise gehemmt, sodass sich die Extinktionsänderung verlangsamt. Eine klassische, konzentrationsabhängige Agglutinationshemmkurve zeigt die maximale Agglutinationsrate bei der niedrigsten Everolimus-Konzentration und die geringste Agglutinationsrate bei der höchsten Everolimus-Konzentration.

Reagenzien

QMS Everolimus wird als Kit mit drei gebrauchsfertigen, flüssigen Reagenzien geliefert. Das Kit enthält:

REF 0373852		
	Reagenz 1	1 x 22 ml
	Reagenz 2	1 x 8 ml
PRE	Fällungsreagenz	1 x 8 ml

Zusätzlich erforderliches Material (nicht im Lieferumfang)

REF	Beschreibung des Kits
0373860	QMS Everolimus-Kalibratoren CAL A-F: 1 x 3,0 ml
0373878	QMS Everolimus-Kontrollen, Konzentrationen 1 bis 3: 1 x 3,0 ml Methanol (HPLC-Reinheitsgrad)

Reaktive Bestandteile

INGRED	Bestandteil	Konzentration
Reagenz 1	IgM-Antiserum (Ziege)	≤ 3,5 %
	Humanserumalbumin (HSA)	≤ 1,0 %
	Polyklonaler Anti-Everolimus-Antikörper (Kaninchen)	< 1,0 %
	Natriumazid	≤ 0,09 %
Reagenz 2	Everolimus-beschichtete Mikropartikel	≤ 0,6 %
	Natriumazid	≤ 0,09 %
PRE	Kupfer(II)-Sulfat	≤ 6,4 %
	Natriumazid	≤ 0,09 %

Handhabung und Lagerung der Reagenzien

- Reagenz 1, Reagenz 2 und **PRE** gebrauchsfertig.
- Vor Gebrauch mehrmals umdrehen und dabei Blasenbildung vermeiden.
- Luftblasen in der Reagenzienkartusche ggf. mit einem neuen Applikatorstab entfernen. Alternativ kann das Reagens bei der entsprechenden Lagerungstemperatur stehen gelassen werden, bis die Luftblasen entwichen sind. Zur Minimierung der Volumendepletion die Luftblasen nicht mit einer Transferpipette entfernen.
- Wenn die Reagenz-1- oder die Reagenz-2-Kartusche leer ist, beide Kartuschen ersetzen und die Kalibration mit mindestens zwei Kontrollkonzentrationen nach den festgelegten Qualitätskontrollvorschriften des Labors verifizieren. Falls die Ergebnisse für die Kontrollen außerhalb der akzeptablen Bereiche liegen, ist u. U. eine erneute Kalibrierung nötig.
- Die analysatorspezifische Tabelle der Assay-Systemparameter enthält Angaben zur Haltbarkeit von Reagenzien, die auf dem Analysegerät gelagert werden, sowie weitere systemspezifische Informationen.
- Falls Material versehentlich verschüttet wird, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.
- Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe Rückseite dieser Packungsbeilage).

⚠ VORSICHT: Luftblasen im Reagenz können die Bestimmung des Reagenzienfüllstands in der Kartusche behindern, was zu unzureichender Aspiration des Reagenzes und damit einer Beeinflussung der Ergebnisse führen kann.

²°C ⁸°C
 Ungeöffnete Reagenzien bleiben bis zum Verfallsdatum stabil, wenn sie bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. **Die Reagenzien dürfen nicht eingefroren oder Temperaturen über 32 °C ausgesetzt werden.**

Licht kann die Stabilität von Reagenz 2 beeinträchtigen. Reagenzien lichtgeschützt lagern.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

In-vitro-Diagnostikum. Materialien mit verschiedenen Kitchargennummern dürfen nicht gemischt werden. Proben mit zu geringem Volumen sind zu vermeiden. Erhöhte Mengen des Antikoagulans können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

 **VORSICHT:** Dieses Produkt enthält Bestandteile humanen Ursprungs und/oder potenziell infektiöse Bestandteile. Die Bestandteile aus Humanblut wurden mit von der FDA genehmigten Methoden getestet und waren auf HBsAg, Anti-HIV 1 und 2 sowie Anti-HCV nicht reaktiv. Es gibt keine Testmethode, die mit vollständiger Gewissheit gewährleisten kann, dass Produkte humanen Ursprungs bzw. inaktivierte Mikroorganismen keine Infektion übertragen. Daher wird empfohlen, alle Materialien humanen Ursprungs als potenziell infektiös anzusehen und beim Umgang entsprechende Biosicherheitsmaßnahmen zu treffen.

GEFAHR: QMS Everolimus Reagenz 1 enthält $\leq 3,5\%$ IgM-Antiserum (Ziege) und $\leq 1,0\%$ polyklonale Kaninchen-Antikörper.

H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 - Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

WARNUNG: QMS Everolimus **[REF]** enthält $\leq 6,4\%$ Kupfer(II)-Sulfat und $\leq 0,09\%$ Natriumazid.

H400 - Sehr giftig für Wasserorganismen.

H410 - Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung.

Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Verschüttete Mengen aufnehmen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Die Reagenzien des Assays enthalten $\leq 0,09\%$ Natriumazid. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Weitere Vorsichtsmaßnahmen, Anweisungen zur Handhabung und Informationen zu den Maßnahmen bei versehentlicher Exposition sind im Sicherheitsdatenblatt zu finden.

Probenentnahme und -handhabung

Für den QMS Everolimus-Assay können die folgenden Probenentnahmeröhrchen benutzt werden:

	Glasröhrchen	Kunststoffröhrchen
Vollblut	EDTA (K ₂)	EDTA (K ₂)

Andere Probenentnahmeröhrchen wurden nicht zum Gebrauch mit dem QMS Everolimus-Assay validiert. Bei allen Probenentnahmeröhrchen sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.

Proben mit zu geringem Volumen können fehlerhafte Ergebnisse liefern. Proben können bei $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ bis zu eine Woche lang gelagert werden. Proben, die mehr als 3 Tage nach Entnahme untersucht werden, müssen eingefroren werden ($-20 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) und können bis zu 28 Tage gelagert werden. Licht kann die Probenstabilität beeinträchtigen. Proben lichtgeschützt lagern. Proben für den QMS Everolimus-Assay sollten kurz vor einer Dosisgabe (Talwert) entnommen werden, um zu bestätigen, dass eine adäquate Dosis verabreicht wurde. Der Talwert der Konzentration ist der deutlichste Indikator für die therapeutische Konzentration von Everolimus.²

Verfahren

Extraktionsverfahren für Proben, Kalibratoren und Kontrollen

Extrakte müssen sofort nach Extraktion analysiert werden.

1. Mikrozentrifugenröhrchen für die Extraktion von Proben, Kalibratoren und Kontrollen vorbereiten.
2. Kalibratoren, Kontrollen und Proben müssen vor der Extraktion vollständig aufgetaut sein und Raumtemperatur angenommen haben. Proben, Kalibratoren und Kontrollen durch Umdrehen mischen.
3. Jeweils genau $300\text{ }\mu\text{l}$ von Kalibrator, Kontrolle und Probe in das Mikrozentrifugenröhrchen pipettieren.
4. In jedes Mikrozentrifugenröhrchen exakt $350\text{ }\mu\text{l}$ Methanol pipettieren.
5. In jedes Mikrozentrifugenröhrchen exakt $50\text{ }\mu\text{l}$ QMS Everolimus-Fällungsreagens pipettieren.
6. Alle Mikrozentrifugenröhrchen sofort verschließen, um Verdampfung zu verhindern, dann mindestens 35 Sekunden lang bei höchster Geschwindigkeit vortexen. Hinweis: Es kann nötig sein, das Röhrchen umzudrehen und erneut zu vortexen, um die vollständige Durchmischung zu gewährleisten. Nach dem Mischen sollte sich die Probenfarbe von Rot zu Braun verändert haben.
7. Röhrchen in eine Mikrozentrifuge einsetzen und mindestens 8 Minuten lang bei 13.400 g zentrifugieren.
8. Nach dem Zentrifugieren den Überstand in geeignete Probengefäße dekantieren. Dabei die Übertragung von Partikeln und Blasen vermeiden. Gefäße in das Instrument einsetzen.
9. Sofort mit der Analysatorkalibrierung bzw. dem Assayprozess beginnen, um das Verdampfen der Probe minimal zu halten.
10. Extrakte nach der Analyse entsorgen. Für Proben, die erneut analysiert werden sollen, sind neue Extrakte erforderlich.

Barcode-Verwendung

Die Reagenzietiketten sind mit einem speziellen System-Barcode versehen, der von den meisten Analysegeräten ignoriert wird, wenn er nicht erkannt wird. Wenn das Analysegerät einen Fehlercode ausgibt, decken Sie den Barcode mit einfarbigem Klebeband ab. Wenden Sie sich an den Kundendienst, wenn Sie Unterstützung benötigen.

Durchführung des Assays

Der Assay wird bei einer Wellenlänge von 700 nm durchgeführt. Eine detaillierte Beschreibung der Durchführung und Kalibrierung des Assays ist in der instrumentenspezifischen Bedienungsanleitung zu finden.

Verdünnung der Probe

Zur manuellen Verdünnung von Proben, deren Konzentration außerhalb des linearen Bereichs des Assays liegt, QMS Everolimus CAL A ($0,0\text{ ng/ml}$) verwenden.

Manuelle Verdünnung

Patientenproben mit Everolimus-Konzentrationen über 20 ng/ml können vor dem Extrahieren der Probe manuell mit QMS Everolimus CAL A ($0,0\text{ ng/ml}$) im Verhältnis 1:1 verdünnt werden. Die Verdünnung muss so durchgeführt werden, dass die Ergebnisse der verdünnten Probe über der Assay-Sensitivität von $1,5\text{ ng/ml}$ liegen. Die als Ergebnis erhaltene Konzentration muss mit dem manuellen Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um die endgültige Probenkonzentration zu erhalten.

Endgültige Probenkonzentration = erhaltene Konzentration x manueller Verdünnungsfaktor

$$\text{Manueller Verdünnungsfaktor} = \frac{(\text{Probenvolumen} + \text{CAL-A-Volumen})}{\text{Probenvolumen}}$$

Kalibrierung

Der QMS Everolimus-Assay muss vollständig kalibriert werden (6-Punkte-Kalibrierung). Zu diesem Zweck werden die QMS Everolimus-Kalibratoren A,B,C,D,E und F zweifach getestet. Für jede neue Charge muss eine Kalibrierung durchgeführt werden. Die Kalibrationskurve ist mit mindestens zwei Kontrollkonzentrationen nach den festgesetzten Qualitätskontrollvorschriften des Labors zu verifizieren. Falls die Ergebnisse mit den Kontrollen außerhalb der akzeptablen Bereiche liegen, sind entsprechende Korrekturmaßnahmen erforderlich.

Hinweis: Everolimus CAL A ist die Kalibrationsleerwertprobe für diesen Assay.

Qualitätskontrolle

Zusätzliche Qualitätskontrollvorschriften und mögliche Korrekturmaßnahmen sind in den Standardarbeitsanweisungen des Labors und/oder dem Qualitätssicherungsplan zu finden. Alle Qualitätskontrollen müssen in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden. Jedes Labor muss seine eigenen Kontrollbereiche und seine eigene Kalibrierungshäufigkeit festlegen.

Empfohlene Kontrollenvorschriften für den QMS Everolimus-Assay:

- Mindestens zwei Kontrollkonzentrationen, die den medizinischen Entscheidungsbereich abdecken, müssen so häufig getestet werden, wie es für die Kontrolle der Extraktionschargen erforderlich ist.
- Wenn eine häufigere Überwachung mit Kontrollen erforderlich ist, sind die festgelegten Qualitätskontrollverfahren für das Labor zu befolgen.
- Sollten die Qualitätskontrollergebnisse nicht innerhalb des im Labor definierten akzeptablen Bereichs liegen, können die Patientenwerte falsch sein, sodass Korrekturmaßnahmen erforderlich sind.

Ergebnisse

Die Ergebnisse des QMS Everolimus-Assays werden in der Einheit ng/ml angegeben.

Wie bei allen analytischen Bestimmungen muss auch der Everolimus-Wert in Verbindung mit Informationen aus klinischen Untersuchungen und anderen diagnostischen Verfahren verwendet werden.

Ergebnisfehlercodes

Ergebnisse können Ergebnisfehlercodes enthalten. Die Beschreibung solcher Codes ist in der instrumentenspezifischen Bedienungsanleitung zu finden.

Grenzen des Verfahrens

Der QMS Everolimus-Assay ist nur für die exakte Wiederfindung in klinischen Patientenproben vorgesehen, nicht für die Wiederfindung in künstlich dotierten Proben.

Mit dem QMS Everolimus-Assay sollten nur QMS Everolimus-Kalibratoren und Kontrollen verwendet werden. Wenn für die Kalibrierung des QMS Everolimus-Assays nicht das QMS Everolimus-Kalibratorset **[REF]** (0373860) verwendet wird, ist keine exakte quantitative Everolimus-Bestimmung möglich.

Der Assay darf nicht bei Patienten verwendet werden, denen vor Kurzem Sirolimus verabreicht wurde. Das Clearing der Sirolimus-Stammverbindung und der Metaboliten muss vollständig abgeschlossen sein, da der Assay mit Sirolimus und dessen Metaboliten kreuzreagiert.

Die störenden heterophilen Antikörper treten in der Allgemeinbevölkerung nur selten auf. In seltenen Fällen können Patientenproben heterophile Antikörper enthalten. Diese Antikörper können eine Autoagglutination des Mikropartikel-Reagens verursachen, was falschniedrige Ergebnisse zur Folge hat, die unbemerkt bleiben.

Aus diagnostischer Sicht muss das Analyseergebnis stets im Zusammenhang mit der Anamnese, dem klinischen Bild und weiteren Befunden interpretiert werden.

Siehe hierzu die Abschnitte „Probenentnahme und -handhabung“ sowie „Spezifische Leistungsdaten“ in dieser Packungsbeilage.

Erwartete Werte

Der allgemeine therapeutische Bereich für Everolimus in Vollblut liegt bei 3 bis 8 ng/ml . Die Komplexität des klinischen Zustands, individuelle Unterschiede in der Sensitivität gegenüber den immunsuppressiven und nephrotoxischen Wirkungen von Everolimus, die gleichzeitige Verabreichung von anderen Immunsuppressiva, die Art des Transplantats, die Zeit nach der Transplantation und eine Reihe weiterer Faktoren bedingen unterschiedliche Zielwerte für die optimale Konzentration von Everolimus im Blut. Daher sind einzelne Everolimuswerte nicht als alleiniger Indikator für Änderungen im Dosierungsschema geeignet. Jeder Patient muss sorgfältig klinisch untersucht werden, bevor das Dosierungsschema verändert wird. Jeder Anwender muss auf Grundlage klinischer Erfahrung Bereiche festlegen. Die therapeutischen Bereiche unterscheiden sich je nach verwendeter Methode und sind daher für jede Methode festzulegen. Aufgrund der methodischen Unterschiede und der Kreuzreaktivität mit Metaboliten dürfen Werte, die mit verschiedenen Methoden ermittelt wurden, nicht als austauschbar betrachtet werden. Auch sollten keine Umrechnungsfaktoren angewendet werden. Es empfiehlt sich daher, für einen bestimmten Patienten immer denselben Assay zu verwenden. Die optimale Dosisanpassung darf nicht nur auf einer einzigen Talwertprobe basieren.

Spezifische Leistungsdaten

Im Folgenden sind repräsentative Leistungsdaten zusammengestellt, die mit einem kommerziell erhältlichen Laborautomaten für die klinische Chemie unter Anwendung von turbidimetrischer quantitativer Analyse erzielt wurden.

Haftungsausschluss: Es wurden nicht sämtliche Organtransplantationspopulationen in allen Zulassungsbereichen validiert. Die länderspezifischen Anwendungen können der Tabelle im Abschnitt „Verwendungszweck“ entnommen werden.

Sensitivität

Die Nachweisgrenze des QMS Everolimus-Assay ist definiert als die niedrigste Konzentration, für die eine akzeptable Inter-Assay-Präzision und -Wiederfindung festgestellt wird (oft gilt dies für VK $\leq 20\%$ mit $\pm 15\%$ Wiederfindung). Die Nachweisgrenze lag bei 1,3 ng/ml.

Assaybereich

Der Assaybereich beträgt 1,5 ng/ml bis 20 ng/ml.

Genauigkeit

Zur Beurteilung der Linearität wurde eine Patientenprobe mit hoher Konzentration auf Konzentrationen im gesamten Assaybereich verdünnt. Die Verdünnungen wurden mit Vollblut-Hämolyolat hergestellt. Die Linearität bei bestimmten Verdünnungen wurde als akzeptabel eingestuft, wenn die prozentuale Wiederfindung bei 100 ± 10 lag.

Linearität

Theoretische Konzentration (ng/ml)	Mittelwert von 12 Wiederholungen	VK (%)	Prozentuale Wiederfindung
0,00	0,33	-	0,00
1,12	1,29	17,28	114,70
2,23	2,36	8,36	105,17
4,46	4,34	5,25	96,53
6,70	6,24	3,03	92,51
8,93	8,60	2,55	95,64
11,16	11,14	3,72	99,11
13,39	13,21	2,63	97,94
15,63	15,85	3,17	100,72
17,86	17,88	6,73	99,42
20,09	19,88	3,83	98,24
22,48	22,32	7,82	99,30

Methodenvergleich

Mit Proben von 150 Patienten mit Nierantransplantaten wurde eine Korrelationsstudie durchgeführt. Die Ergebnisse des QMS Everolimus-Assays wurden mit den LC-/MS-Ergebnissen verglichen. Im Folgenden sind die Ergebnisse der Passing-Bablok-Regressionsanalyse für die Studie zusammengestellt.

Steigung	1,11
y-Achsenabschnitt	-0,005
Korrelationskoeffizient (r)	0,96
Anzahl Proben	150

Mit Proben von 41 Patienten mit Herztransplantaten wurde eine zweite Korrelationsstudie durchgeführt. Die Ergebnisse des QMS Everolimus-Assays wurden mit den LC-/MS-Ergebnissen verglichen. Im Folgenden sind die Ergebnisse der Passing-Bablok-Regressionsanalyse zusammengestellt.

Steigung	1,00
y-Achsenabschnitt	-0,15
Korrelationskoeffizient (r)	0,96
Anzahl Proben	41

Mit Proben von 111 Patienten mit Lebertransplantaten wurde eine dritte Korrelationsstudie durchgeführt. Die Ergebnisse des QMS Everolimus-Assays wurden mit den LC-/MS-Ergebnissen verglichen. Im Folgenden sind die Ergebnisse der Passing-Bablok-Regressionsanalyse zusammengestellt.

Steigung	0,98
y-Achsenabschnitt	-0,06
Korrelationskoeffizient (r)	0,93
Anzahl Proben	111

Präzision

Die Präzision wurde gemäß NCCLS-Protokoll EP5-A2 bestimmt.¹⁰

Für diese Studie wurde eine Everolimus enthaltende Kontrolle auf Humanblutbasis in drei Konzentrationen und ein Patientenprobenpool in drei Konzentrationen verwendet. Jede Konzentration wurde in Doppelansätzen 20 Tage lang zweimal täglich bestimmt. Die Intervalle zwischen den an einem Tag durchgeführten Analysen betragen mindestens zwei Stunden. Es wurden die Mittelwerte sowie die Standardabweichung und der prozentuale Variationskoeffizient innerhalb eines Testlaufs, zwischen den Tagen sowie insgesamt berechnet. Repräsentative Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt.

Kontrolle	N	Mittelwert (ng/ml)	Intratestlauf		Zwischen den Tagen		Gesamt	
			St. abw.	VK (%)	St. abw.	VK (%)	St. abw.	VK (%)
1	80	3,93	0,13	3,21	0,22	5,65	0,28	7,19
2	80	8,20	0,25	3,01	0,33	4,05	0,51	6,16
3	80	14,90	0,83	5,57	0,68	4,55	1,11	7,47
Patientenpools								
1	80	3,87	0,28	7,31	0,18	4,59	0,37	9,45
2	80	8,73	0,18	2,11	0,46	5,24	0,64	7,27
3	80	12,07	0,43	3,59	0,32	2,67	0,80	6,62

Störsubstanzen

Spezifität

Die Störsubstanzstudien wurden nach NCCLS-Protokoll EP7-A durchgeführt.^{11,12} Die Kreuzreaktivität wurde für die verfügbaren Hauptmetaboliten von Everolimus getestet. Außerdem wurden weitere Medikamente, die routinemäßig mit Everolimus verabreicht werden, sowie körpereigene Substanzen getestet, um festzustellen, ob diese Verbindungen die Quantifizierung von Everolimus-Konzentrationen mit dem QMS Everolimus-Assay beeinflussen.

Metaboliten

Es wurden Studien durchgeführt, um die Kreuzreaktivität des QMS Everolimus-Antiserums mit wichtigen Everolimus-Metaboliten zu untersuchen. Die getesteten Verbindungen wurden in zwei Konzentrationen einem menschlichen Blut-Hämolyolat mit 5 ng/ml Everolimus-Arzneistoff zugesetzt und mit dem QMS Everolimus-Assay getestet. Die Kreuzreaktivität in Prozent wurde berechnet. Die Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt:

Getestete Verbindung	Getestete Konzentration (ng/ml)	Wiedergefundene Konzentration (ng/ml)	Prozent Kreuzreaktivität
RAD SA	5	6,08	7
RAD SA	20	6,07	2
RAD PSA	5	6,33	12
RAD PSA	20	9,00	16
RAD PC	5	8,86	63
RAD PC	20	17,61	59
45/46 OH RAD	5	5,82	nn
45/46 OH RAD	20	6,13	2
24 OH RAD	5	6,23	9
24 OH RAD	20	6,81	5
25 OH RAD	5	6,56	15
25 OH RAD	20	10,24	22

nn = nicht nachgewiesen

Darüber hinaus wurden Studien durchgeführt, um die Kreuzreaktivität des QMS Everolimus-Antiserums mit Sirolimus und seinen wichtigsten Metaboliten zu untersuchen. Die getesteten Verbindungen wurden in zwei Konzentrationen einem menschlichen Blut-Hämolyolat mit 5,5 ng/ml Everolimus-Arzneistoff zugesetzt und mit dem QMS Everolimus-Assay getestet. Die Kreuzreaktivität in Prozent wurde berechnet. Die Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt:

Sirolimus und Sirolimus-Metaboliten			
Getestete Verbindung	Getestete Konzentration (ng/ml)	Wiedergefundene Konzentration (ng/ml)	Prozent Kreuzreaktivität
Sirolimus	10	9,94	46
Trihydroxy-sirolimus; 7,41-O-didemethyl-sirolimus	90	9,34	4
41-O-demethyl-hydroxy-sirolimus	90	8,55	3
41-O-demethyl-hydroxy-sirolimus; 7-O-demethyl-sirolimus	90	7,29	2
11-hydroxy-sirolimus	90	16,43	12
Isomer von 11-hydroxy-sirolimus	90	11,00	6
Hydroxy-sirolimus	90	6,96	2
N-oxid-sirolimus	90	12,10	7
Isomer von Hydroxyl-sirolimus oder N-oxid-sirolimus	90	6,71	1
41-O-demethyl-sirolimus; 32-O-demethyl-sirolimus	30	18,32	45

Endogene Substanzen

Die folgenden Verbindungen führten in den angegebenen Konzentrationen beim Test mit dem QMS Everolimus-Assay zu einem Fehler von weniger als 10% beim Everolimus-Nachweis. Die Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt:

Stör-substanz	Störsubstanz-konzentration	N	Everolimus (ng/ml)	Prozentuale Wiederfindung
Bilirubin	60 mg/dl	10	4,45	95,86
Cholesterin	347 mg/dl	3	4,22	101,10
Kreatinin	5 mg/dl	3	5,40	99,60
Gammaglobulin	12 g/dl	3	4,06	92,86
HAMA Typ 1*	Normale Humankonzentration	3	4,22	102,92
HAMA Typ 2*	Normale Humankonzentration	3	4,22	95,02
Hämatokrit	60%	10	4,18	101,89
Rheumafaktor	1.350 IU	3	4,22	101,42
Gesamteiweiß	12 g/dl	3	4,06	105,17
Triglycerid	1.500 mg/dl	3	4,22	100,60
Harnsäure	40 mg/dl	3	4,22	99,53

*HAMA = Humane Anti-Maus-Antikörper

Kreuzreaktivität von Arzneistoffen

Es wurde die Kreuzreaktivität von Arzneistoffen untersucht, die routinemäßig zusammen mit Everolimus verabreicht werden. Kreuzreaktanten wurden in einem mit Everolimus dotierten Hämolyt bei 5-6 ng/ml analysiert. Die folgenden Verbindungen wurden untersucht:

Verbindung	Geprüfte Konzentration (µg/ml)	Prozent Kreuzreaktivität
Acetaminophen	200	nn
N-Acetylprocainamid	120	nn
Acyclovir	1.000	0,0
Albuterol	0,18	nn
Allopurinol	60	nn
Amikacin	150	0,0
Amphotericin B	100	0,0
Ascorbinsäure	30	nn
Atenolol	40	nn
Azathioprin	10	nn
Bactrim (5:1 Sulfamethoxazol Trimethoprim)	525 Sulfamethoxazol 45 Trimethoprim	0,0
Koffein	100	nn
Captopril	50	0,0
Carbamazepin	120	0,0
Cefaclor	230	nn
Chloramphenicol	250	nn
Cimetidin	100	nn
Ciprofloxacin	250	0,0
Cyclosporin A	1	nn
Digoxin	0,01	-2,0
Disopyramid	30	0,0
Erythromycin	200	0,0
Ethanol	3.500	nn
Fluconazol	75	0,0
Fluorocytosin	300	0,0
Folsäure	0,01	nn
Furosemid	100	nn
Ganciclovir	1.000	nn
Gemfibrozil	75	nn
Gentamicin	20	nn

Fortsetzung der Tabelle

Verbindung	Geprüfte Konzentration (µg/ml)	Prozent Kreuzreaktivität
Glipizid	60	nn
Glyburid	40	nn
Heparin	16	0,0
Hydralazin	32	nn
Hydrochlorothiazid	40	nn
Ibuprofen	400	nn
Insulin	0,0167	1,0
Intralipid	15.000	nn
Isoniazid	70	nn
Isoproterenol HCl	0.06	nn
Itraconazol	17	nn
Kanamycin A	100	nn
Kanamycin B	100	nn
Ketoconazol	10	nn
Labetalol	200	nn
Lidocain	100	nn
Lithium	22,2	nn
Lovastatin	4	0,0
Metformin HCl	5.100	nn
Methicillin	240	nn
Methotrexat	910	nn
Metoclopramid	4	nn
Misoprostol	0,015	nn
Morphinsulfat	6	nn
Mycophenolsäure	250	nn
Nadolol	333	nn
Naproxen	1.000	0,0
Niacin	800	nn
Nifedipin	120	0,0
Omeprazol	14	nn
Pantoprazol-Natrium	15	0,0
Penicillin G	100	0,0
Phenobarbital	150	nn
Phenytoin	100	0,0
Piperacillin	8	nn
Prazosin	25	nn
Prednison	12	nn
Prednisolon	12	nn
Primidon	100	0,0
Procainamid	25	nn
Propranolol	0,5	nn
Quinidin	100	nn
Ranitidin	200	nn
Rifampin	50	0,0
Salicylsäure	500	nn
Sotrastaurin	40	0,0
Spectinomycin	100	nn
Sulfamethoxazol	400	0,0
Tacrolimus	0,04	1,0
Theophyllin	250	nn
Tobramycin	20	nn

Fortsetzung der Tabelle

Verbindung	Gepüfte Konzentration (µg/ml)	Prozent Kreuzreaktivität
Triamteren	600	0,0
Trimethoprim	20	nn
Valganciclovir HCl	36	0,0
Valproinsäure	1.000	0,0
Vancomycin	630	nn
Verapamil	10	nn

nn = nicht nachweisbar. Die Kreuzreaktivität gilt als nicht nachweisbar, wenn der Unterschied zwischen der dotierten Probe und der Kontrolle geringer ist als die Standardabweichung der Kontrollreplikate.

Literaturverweise

1. Certican (Everolimus) dispersible tablets proposed labeling. Novartis NDA No. 21-561 and 26-628. December 19, 2002.
2. Kovarik JM, Kaplan B, Silva HT, et al. Exposure-response relationships for everolimus in de novo kidney transplantation: defining a therapeutic range. *Transplantation* 2002;73(6):920-5.
3. Nashan B. The role of Certican (Everolimus, Rad) in the many pathways of chronic rejection. *Transplant Proc* 2001; 33:3215-20.
4. Holt DW. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11(6):657-63.
5. Kahan BD, Keown P, Levy GA, et al. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther* 2002;24(3):330-50.
6. McMahon LM, Luo S, Hayes M, et al. High-throughput analysis of everolimus (RAD001) and cyclosporine A (CsA) in whole blood by liquid chromatography/mass spectrometry using a semi-automated 96-well solid-phase extraction system. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2000;14:1965-71.
7. Brignol N, McMahon LM, Luo S, et al. High-throughput semi-automated 96-well liquid/liquid extraction and liquid chromatography/mass spectrometric analysis of everolimus (RAD001) and cyclosporine A (CsA) in whole blood. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2002;15:1-10.
8. Streit F, Armstrong VW, Oellerich M, et al. Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry routine method for simultaneous determination of sirolimus, everolimus, tacrolimus, and cyclosporine A in whole blood. *Clin Chem* 2002;48(6):955-8.
9. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part III *J Clin Chem Clin Biochem* 1988;26(11):783-90.
10. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition (EP5-A2). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2004.
11. Powers DM, Boyd JC, Glick MR, et al. Interference Testing in Clinical Chemistry (EP7-A) Villanova, PA. The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
12. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Interference Testing in Clinical Chemistry: Approved Guideline-Second Edition (EP7-A2). Wayne, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2005.

Glossar:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundenbetreuung und technischer
Support in den USA
1-800-232-3342



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



Aktualisierungen der Packungsbeilage finden Sie auf:
www.thermofisher.com/diagnostics

Weitere Länder:

Bitte wenden Sie sich an die Thermo Fisher Scientific-Vertretung in Ihrer Region.

© 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten.

Certican® ist eine eingetragene Marke von Novartis®. Alle anderen Marken sind Eigentum von Thermo Fisher Scientific und ihren Tochtergesellschaften.

0160060-3-DE
2024 01

thermo
scientific