

IVD Solo per uso diagnostico in vitro

REF 0373852

Leggere attentamente questo foglietto illustrativo relativo al sistema Quantitative Microsphere System (QMS) (Sistema quantitativo a microsferi) prima dell'uso. Attenersi rigorosamente alle istruzioni contenute nel foglietto illustrativo. Non è possibile garantire l'attendibilità dei risultati del dosaggio in caso di deviazioni dalle istruzioni contenute nel presente foglietto illustrativo.

Uso previsto

Il dosaggio QMS® Everolimus deve essere utilizzato per la determinazione quantitativa di everolimus nel sangue umano intero su analizzatori chimico-clinici automatizzati.

Il dosaggio QMS Everolimus è concepito per essere utilizzato come supporto nella gestione di pazienti in terapia a base di everolimus e sottoposti ai trapianti d'organo indicati nello schema relativo a ciascun paese. Nello schema in basso è indicato con una "X" il paese in cui il farmaco per il tipo di trapianto indicato ha ricevuto l'approvazione del mercato.

Paese	Tipo di trapianto			Paese	Tipo di trapianto		
	Rene	Cuore	Fegato		Rene	Cuore	Fegato
Argentina	X	X	X	Libano	X	X	X
Australia	X	X		Lituania	X	X	X
Austria	X	X	X	Lussemburgo	X	X	X
Bahrein	X	X	X	Malesia	X	X	
Belgio	X	X	X	Malta	X	X	X
Brasile	X	X	X	Paesi Bassi	X	X	X
Bulgaria	X	X	X	Nuova Zelanda	X	X	X
Canada	X			Norvegia	X	X	X
Cile	X	X	X	Oman	X	X	X
Colombia	X	X		Perù	X	X	
Costa Rica	X	X	X	Filippine	X	X	X
Cipro	X	X	X	Polonia	X	X	X
Repubblica Ceca	X	X	X	Portogallo	X	X	X
Danimarca	X	X	X	Qatar	X	X	
Repubblica Dominicana	X	X		Romania	X	X	X
Ecuador	X	X		Russia	X	X	
Egitto	X	X	X	Arabia Saudita	X	X	X
Estonia	X	X	X	Singapore	X	X	X
Finlandia	X	X	X	Slovacchia	X	X	X
Francia	X	X	X	Slovenia	X	X	X
Germania	X	X	X	Sudafrica	X	X	X
Grecia	X	X	X	Corea del Sud	X	X	X
Hong Kong	X	X	X	Spagna	X	X	X
Ungheria	X	X	X	Svezia	X	X	X
Islanda	X	X	X	Svizzera	X	X	X
India	X	X		Taiwan	X	X	X
Italia	X	X	X	Tailandia	X	X	X
Giordania	X	X		Turchia	X	X	X
Kuwait	X	X		Venezuela	X	X	
Lettonia	X	X	X				

Riepilogo e spiegazione del test

L'everolimus è un immunosoppressore macrolide ottenuto dalla modificazione chimica del prodotto naturale rapamicina. La rapamicina è prodotta da alcuni ceppi di *Streptomyces hygroscopicus*.¹

Le strategie di trattamento con immunosoppressori hanno lo scopo di prevenire l'attivazione e/o la proliferazione delle cellule T. L'everolimus agisce come inibitore della proliferazione. A livello cellulare, l'everolimus inibisce generalmente la proliferazione cellulare stimolata da un fattore di crescita, indipendentemente dalla linea cellulare o dal fattore di crescita interessato. L'inibizione è reversibile poiché l'everolimus non è un composto citotossico. L'everolimus inibisce la risposta delle cellule T ai fattori di crescita, arrestando l'espansione clonale delle cellule T attivate grazie all'inibizione della transizione della fase G1 alla fase S.³ Gli inibitori della calcineurina, la ciclosporina (CsA) e il tacrolimus, impediscono l'attivazione delle cellule T inibendo la transizione dalla fase G0 alla fase G1. Le diverse modalità di azione dell'everolimus e degli inibitori della calcineurina (come la ciclosporina) offrono un'adeguata spiegazione della sinergia farmacodinamica.^{1,3}

Il monitoraggio delle concentrazioni di everolimus nel sangue è consigliato come strumento per la gestione dei pazienti sottoposti a trattamento clinico con everolimus.^{4,5} La matrice preferita è il sangue intero perché, a concentrazioni terapeutiche, il composto è prevalentemente ripartito negli eritrociti. Per misurare la concentrazione di everolimus nel sangue si è fatto ricorso alla cromatografia liquida abbinata alla spettrometria di massa.^{6,8}

Principi della procedura

Il dosaggio QMS Everolimus è un dosaggio immunoturbidimetrico a particelle omogenee. Il dosaggio si basa sulla competizione tra il farmaco presente nel campione e il farmaco presente nel rivestimento di microparticelle per i siti di legame anticorporeale dell'agente contenente l'anticorpo anti-everolimus. Il reagente contenente le microparticelle rivestite di everolimus viene rapidamente agglutinato in presenza del reagente contenente l'anticorpo anti-everolimus e in assenza di farmaci antagonisti nel campione. La velocità della variazione di assorbanza viene misurata tramite fotometria. Quando viene aggiunto un campione contenente everolimus, la reazione di agglutinazione risulta parzialmente inibita, rallentando la velocità della variazione di assorbanza. È possibile ottenere una classica curva di inibizione dell'agglutinazione concentrazione-dipendente con tasso massimo di agglutinazione alla concentrazione minima di everolimus e tasso minimo di agglutinazione alla concentrazione massima di everolimus.

Reagenti

Il dosaggio QMS Everolimus è fornito come kit composto da tre reagenti allo stato liquido pronti per l'uso, che contiene:

REF	0373852		
	Reagente 1	1 x 22 ml	
	Reagente 2	1 x 8 ml	
PRE	Reagente precipitante	1 x 8 ml	

Materiali necessari ma non forniti

REF	Descrizione del kit
0373860	Calibratori QMS Everolimus CAL A-F: 1 x 3,0 ml
0373878	Controlli QMS Everolimus Livelli 1-3: 1 x 3,0 ml
	Metanolo (qualità per HPLC)

Ingredienti reattivi

INGRED	Ingrediente	Concentrazione
Reagente 1	IgM Antisiero (da capra)	≤3,5%
	Albumina sierica umana (HSA)	≤1,0%
	Anticorpo policlonale anti-everolimus (coniglio)	<1,0%
	Sodio azide	≤0,09%
Reagente 2	Microparticelle rivestite di everolimus	<0,6%
	Sodio azide	≤0,09%
	Solfato di rame (II)	≤6,4%
PRE	Sodio azide	≤0,09%

Manipolazione e conservazione dei reagenti

- Reagente 1, Reagente 2 e **PRE** sono pronti per l'uso
- Prima dell'uso, capovolgere più volte evitando la formazione di bollicine.
- Se presenti nella cartuccia reagenti, rimuovere le bollicine d'aria usando un nuovo bastoncino applicatore. In alternativa, lasciare riposare il reagente alla temperatura di conservazione corretta in modo da consentire la dissipazione delle bollicine. Per ridurre al minimo lo spreco di volume, non usare una pipetta di trasferimento per rimuovere le bollicine.
- Quando la cartuccia reagente Reagente 1 o Reagente 2 si esaurisce, sostituire entrambe le cartucce e verificare la calibrazione con almeno due livelli di controlli in base ai requisiti relativi al controllo di qualità stabiliti dal laboratorio di appartenenza. Se i risultati del controllo non rientrano nei limiti dell'intervallo di accettabilità, potrebbe essere necessario eseguire nuovamente la calibrazione.
- Per informazioni specifiche di sistema, consultare la scheda dei parametri del sistema di analisi specifico dell'analizzatore in dotazione.
- In caso di fuoriuscite accidentali, pulire e smaltire il materiale in conformità alle SOP del laboratorio e alle normative vigenti.
- Se la confezione arriva danneggiata, contattare il rappresentante locale dell'assistenza tecnica (fare riferimento al retro di questo foglietto illustrativo).

ATTENZIONE: eventuali bollicine nel reagente possono interferire con il corretto rilevamento del livello di reagente nella cartuccia, provocando l'aspirazione di una quantità di reagente insufficiente con un possibile effetto negativo sui risultati.

I reagenti non aperti rimangono stabili fino alla data di scadenza indicata, se conservati a una temperatura compresa fra 2 e 8 °C.

Non congelare i reagenti o esporli a temperature superiori a 32 °C.

La luce può compromettere la stabilità di Reagente 2. Conservare i reagenti lontano da sorgenti luminose.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico in vitro. Non mescolare materiali provenienti da kit con numeri di lotto diversi. Evitare di usare campioni prelevati in quantità inferiore. Quantità maggiori di anticoagulante possono dare luogo a risultati errati.

BIO **ATTENZIONE:** questo prodotto contiene materiale di origine umana e/o componenti potenzialmente infettivi. I componenti provenienti da sangue umano sono stati sottoposti a test con metodi approvati dalla FDA e sono risultati non reattivi per l'HBsAg e gli anticorpi anti-HIV 1/2 e anti-HCV. Nessun metodo di test è in grado di assicurare in modo assoluto che i prodotti ottenuti da materiale di origine umana o da microrganismi inattivi non siano in grado di trasmettere infezioni. Pertanto, si consiglia di considerare tutti i materiali di origine umana come potenzialmente infettivi e di maneggiarli in base alle corrette procedure di biosicurezza.

PERICOLO: QMS Everolimus Reagente 1 contiene $\leq 3,5\%$ di siero IgM Antisiero (da capra) e $\leq 1,0\%$ di anticorpo policlonale di coniglio.
H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.
H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Evitare di respirare la polvere o i vapori. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/ il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. **IN CASO DI INALAZIONE:** se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

AVVERTENZA: QMS Everolimus [REF] contiene $\leq 6,4\%$ di solfato di rame (II) e $\leq 0,09\%$ di sodio azide. H400 - Molto tossico per gli organismi acquatici.
H410 - Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Non disperdere nell'ambiente. Raccogliere il materiale fuoriuscito. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

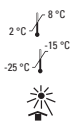
I reagenti utilizzati nei componenti del dosaggio contengono $\leq 0,09\%$ di sodio azide. Evitare il contatto con la pelle e con le membrane mucose. Per ulteriori precauzioni, istruzioni relative alla manipolazione e informazioni sul trattamento in caso di esposizione accidentale, fare riferimento alla scheda di sicurezza.

Prelievo e trattamento dei campioni

Per il dosaggio QMS Everolimus possono essere utilizzate le seguenti provette per il prelievo dei campioni:

	Vetro	Plastica
Sangue intero	EDTA (K ₃)	EDTA (K ₂)

Altre provette per il prelievo dei campioni non sono state convalidate per l'uso nell'ambito del dosaggio QMS Everolimus. Per tutte le provette per il prelievo dei campioni, attenersi alle istruzioni per il trattamento fornite dai rispettivi produttori.

 L'uso di campioni prelevati in quantità inferiore può dare luogo a risultati errati. I campioni possono essere conservati per un massimo di 3 giorni a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Se l'analisi non viene effettuata entro 3 giorni, i campioni devono essere conservati congelati (-20 ± 5 °C) per un massimo di 28 giorni prima di essere analizzati. La luce può compromettere la stabilità del campione. Conservare i campioni lontano da sorgenti luminose. Prelevare i campioni destinati al dosaggio QMS Everolimus appena prima della somministrazione di una dose di farmaco (livello minimo) per confermare che la dose prescritta sia adeguata. La concentrazione minima è quella più indicativa del livello terapeutico di everolimus.²

Procedura

Procedura di estrazione di campioni, calibratori e controlli

Gli estratti devono essere sottoposti ad analisi subito dopo l'estrazione.

1. Preparare le provette per microcentrifuga per l'estrazione dei campioni, dei calibratori e dei controlli.
2. Prima dell'estrazione, scongelare completamente calibratori, controlli e campioni e portarli a temperatura ambiente. Miscelare bene i campioni, i calibratori e i controlli capovolgendone le fiale.
3. Pipettare con precisione 300 µL di ciascun calibratore, controllo o campione da analizzare nelle rispettive provette per microcentrifuga.
4. Erogare con precisione 350 µL di metanolo in ciascuna provetta per microcentrifuga.
5. Pipettare con precisione 50 µL di reagente precipitante QMS Everolimus in ciascuna provetta per microcentrifuga.
6. Tappare immediatamente tutte le provette per microcentrifuga per evitare l'evaporazione, quindi miscelarle con decisione o agitarle mediante vortex alla velocità massima per almeno 35 secondi. Nota: per garantire la miscelazione completa, potrebbe essere necessario miscelare nuovamente le provette capovolgendole. Dopo la miscelazione, il colore del campione deve variare dal rosso al marrone.
7. Collocare le provette in una microcentrifuga e centrifugarle per almeno 8 minuti a 13.400 xg.
8. Dopo la centrifugazione, travasare il supernatante in cospette per campione appropriate. Evitare di trasferire particolato e bollicine. Caricare le cospette nello strumento.
9. Avviare immediatamente la calibrazione dell'analizzatore o il processo di analisi per ridurre al minimo l'evaporazione dei campioni.
10. Dopo l'analisi smaltire gli estratti rimasti. La rianalisi dei campioni richiede estrazioni fresche.

Uso dei codici a barre

Le etichette dei reagenti dispongono di un codice a barre del sistema dedicato che la maggior parte degli analizzatori ignora se non viene riconosciuto. Se l'analizzatore restituisce un codice di errore, ricoprire il codice a barre con nastro adesivo non trasparente. Se necessario, contattare l'assistenza tecnica.

Procedura di dosaggio

Il dosaggio viene eseguito a una lunghezza d'onda di 700 nm. Per una descrizione dettagliata delle modalità di esecuzione e di calibrazione del dosaggio, consultare il manuale d'uso specifico dello strumento utilizzato.

Procedura di diluizione dei campioni

Usare QMS Everolimus CAL A (0,0 ng/ml) per diluire manualmente i campioni che eccedono la linearità del dosaggio.

Protocollo di diluizione manuale

I campioni dei pazienti contenenti concentrazioni di everolimus superiori a 20 ng/ml possono essere diluiti manualmente mediante una diluizione 1:1 del campione con QMS Everolimus CAL A (0,0 ng/ml) prima di eseguirne l'estrazione. La diluizione deve essere eseguita in modo che i risultati del test del campione diluito siano superiori alla soglia di sensibilità del dosaggio pari a 1,5 ng/ml. Per ottenere la concentrazione finale del campione, la concentrazione refertata deve essere successivamente moltiplicata per il fattore di diluizione manuale.

$$\text{Concentrazione finale del campione} = \text{Concentrazione refertata} \times \text{Fattore di diluizione manuale}$$

$$\text{Fattore di diluizione manuale} = \frac{\text{Volume del campione} + \text{Volume del CAL A}}{\text{Volume del campione}}$$

Calibrazione

Il dosaggio QMS Everolimus deve essere calibrato usando una procedura di calibrazione completa (a 6 punti). Per eseguire una calibrazione completa, analizzare in duplicato i QMS Everolimus Calibratori A, B, C, D E ed F. La calibrazione è necessaria con ciascun nuovo numero di lotto. Verificare la curva di calibrazione con almeno due livelli di controlli in base ai requisiti relativi al controllo di qualità stabiliti dal laboratorio di appartenenza. Se i risultati del controllo non rientrano negli intervalli di accettabilità, intraprendere un'azione correttiva.

Nota: Everolimus CAL A è il bianco di calibrazione di questo dosaggio.

Controllo di qualità

Per gli ulteriori requisiti di controllo di qualità e le possibili azioni correttive, consultare le procedure operative standard e/o il programma di garanzia di qualità vigenti nel laboratorio di appartenenza. Tutti i requisiti di controllo della qualità devono essere soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento. Ciascun laboratorio deve stabilire i propri intervalli di controllo e la frequenza di calibrazione.

Requisiti consigliati per i controlli del dosaggio QMS Everolimus:

- Almeno due livelli di controlli all'interno dell'intervallo decisionale medico devono essere analizzati con la frequenza necessaria al controllo per i batch di estrazione.
- Se è necessario effettuare un monitoraggio di controllo più frequente, attenersi alle procedure relative al controllo di qualità del laboratorio di appartenenza.
- Se i risultati del controllo di qualità non rientrano nell'intervallo di accettabilità definito dal laboratorio, i risultati dei pazienti possono non essere affidabili ed è necessario intraprendere azioni correttive.

Risultati

I risultati del dosaggio QMS Everolimus vengono refertati in ng/ml.

Come per tutte le determinazioni di analisi, il valore dell'everolimus deve essere usato contestualmente alle informazioni disponibili ottenute mediante valutazioni cliniche e altre procedure diagnostiche

Codici di errore dei risultati

È possibile che alcuni risultati possano riportare codici di errore. Per una descrizione dei codici di errore, consultare il manuale d'uso specifico dello strumento utilizzato.

Limiti della procedura

Il dosaggio QMS Everolimus è stato concepito esclusivamente per il recupero accurato di campioni clinici dei pazienti e non per i campioni arricchiti artificialmente.

Con il dosaggio QMS Everolimus devono essere utilizzati soltanto calibratori e controlli QMS Everolimus. Non è possibile ottenere una determinazione quantitativa accurata dell'everolimus se nella calibrazione del dosaggio QMS Everolimus non viene usata la serie di calibratori QMS Everolimus [REF] (0373860).

Il dosaggio non può essere utilizzato in pazienti a cui di recente sia stato somministrato sirolimus (finché il composto parente del sirolimus e i metaboliti non vengono eliminati completamente) poiché il dosaggio ha una reazione crociata con il sirolimus e i suoi metaboliti.

Gli anticorpi eterofili interferenti sono raramente presenti nella popolazione generale. In casi rari, i campioni dei pazienti possono contenere anticorpi eterofili. Questi anticorpi possono causare l'autoagglutinazione del reagente contenente le microparticelle dando luogo a risultati erroneamente bassi che non vengono rilevati come tali.

Ai fini diagnostici, i risultati dell'analisi devono sempre essere valutati nel contesto dell'anamnesi del paziente, degli esiti degli esami e di altri risultati clinici.

Consultare le sezioni "Prelievo e trattamento dei campioni" e "Caratteristiche specifiche delle prestazioni" del presente foglio illustrativo.

Valori attesi

Un intervallo terapeutico generale per l'everolimus nel sangue intero è di 3-8 ng/ml. La complessità dello stato clinico del paziente, le differenze individuali in fatto di sensibilità agli effetti immunosoppressori e nefrotossici dell'everolimus, la somministrazione concomitante di altri immunosoppressori, il tipo di trapianto, il periodo di tempo trascorso dal trapianto e altri fattori contribuiscono ai diversi requisiti per livelli ematici ottimali di everolimus. Pertanto, i valori individuali di everolimus non possono essere usati come indicatore unico per stabilire la necessità di eventuali modifiche al regime terapeutico e ciascun paziente deve essere valutato in modo approfondito dal punto di vista clinico prima di apportare tali modifiche. Ciascun utilizzatore deve stabilire i propri intervalli in base all'esperienza clinica. Gli intervalli terapeutici variano in base al metodo usato e vanno quindi stabiliti per ciascun metodo in questione. I valori ottenuti con metodi diversi non possono essere usati in modo intercambiabile a causa delle differenze nei metodi e nella reattività crociata con i metaboliti; inoltre, non possono essere applicati fattori di correzione. Pertanto, si consiglia di usare sempre lo stesso tipo di dosaggio per lo stesso paziente. La regolazione della dose ottimale deve essere basata su più di un solo campione minimo.

Caratteristiche specifiche di prestazione

I risultati rappresentativi delle prestazioni ottenute mediante un analizzatore chimico-clinico automatizzato disponibile in commercio e basato sull'analisi quantitativa turbidimetrica sono riportati qui di seguito.

Esclusione di responsabilità: non tutte le popolazioni per il trapianto di organi sono state approvate in tutte le regioni soggette a normativa. Fare riferimento alla tabella nella sezione Uso previsto per l'utilizzo specifico per paese.

Sensibilità

Il limite di quantizzazione (LOQ, Limit Of Quantitation) del dosaggio QMS Everolimus è definito come la concentrazione più bassa alla quale si osservano una precisione e un recupero inter-analisi accettabili (spesso considerati CV ≤20% con recupero di ±15%). Si è stabilito che il valore del LOQ è pari a 1,3 ng/ml.

Intervallo del dosaggio

L'intervallo del dosaggio è compreso tra 1,5 e 20 ng/ml.

Accuratezza

Gli studi di linearità sono stati condotti diluendo un campione del paziente con elevata concentrazione in modo da ottenere svariate concentrazioni all'interno dell'intervallo del dosaggio. Le diluizioni sono state effettuate con emolizzato di sangue intero. La linearità a diluizioni specifiche è stata considerata accettabile se il recupero percentuale è risultato di 100 ± 10.

Linearità

Concentrazione teorica (ng/ml)	Media di 12 replicati	CV (%)	Recupero percentuale
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

Confronto tra metodi

Uno studio di correlazione è stato eseguito usando campioni provenienti da 150 pazienti sottoposti a trapianto del rene. I risultati del dosaggio QMS Everolimus sono stati confrontati con i risultati ottenuti mediante LC/MS. I risultati dell'analisi della regressione di Passing-Bablok⁹ dello studio sono riportati qui di seguito.

Pendenza	1,11
Intercetta Y	-0,005
Coefficiente di correlazione (R)	0,96
Numero di campioni	150

Un secondo studio di correlazione è stato eseguito usando campioni provenienti da 41 pazienti sottoposti a trapianto del cuore. I risultati del dosaggio QMS Everolimus sono stati confrontati con i risultati ottenuti mediante LC/MS. I risultati dell'analisi della regressione di Passing-Bablok sono riportati qui di seguito.

Pendenza	1,00
Intercetta Y	-0,15
Coefficiente di correlazione (R)	0,96
Numero di campioni	41

Un terzo studio di correlazione è stato eseguito usando campioni provenienti da 111 pazienti sottoposti a trapianto del fegato. I risultati del dosaggio QMS Everolimus sono stati confrontati con i risultati ottenuti mediante LC/MS. I risultati dell'analisi della regressione di Passing-Bablok sono riportati qui di seguito.

Pendenza	0,98
Intercetta Y	-0,06
Coefficiente di correlazione (R)	0,93
Numero di campioni	111

Precisione

La precisione è stata determinata in base a quanto descritto in NCCLS protocol EP5-A2.¹⁰

Nello studio sono stati utilizzati un controllo trilivello a base di sangue umano contenente everolimus e un campione trilivello ottenuto da un pool di pazienti. Ciascun livello di controllo è stato analizzato in duplicato due volte al giorno per 20 giorni. Tra una sessione di analisi e quella successiva nella stessa giornata sono intercorse almeno due ore. Sono state calcolate le medie, le DS e i CV (%) tra giorni, intra-analisi e totali. I risultati rappresentativi sono riportati qui di seguito.

Controllo	N	Media (ng/ml)	Intra-analisi		Tra giorni		Totali	
			DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)
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
Pool di pazienti								
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

Sostanze interferenti

Specificità

Gli studi di interferenza sono stati svolti in base alle linee guida di NCCLS protocol EP7-A.^{11,12} La reattività crociata è stata analizzata per i principali metaboliti disponibili dell'everolimus. Altri farmaci regolarmente somministrati con l'everolimus e sostanze endogene sono anch'essi stati sottoposti ad analisi per determinare se tali composti influiscono sulla determinazione quantitativa delle concentrazioni di everolimus mediante il dosaggio QMS Everolimus.

Metaboliti

Sono stati condotti studi per esaminare la reattività crociata dell'antisiero QMS Everolimus con i metaboliti principali dell'everolimus. I composti analizzati sono stati aggiunti in due concentrazioni all'emolizzato di sangue umano contenente 5 ng/ml di farmaco con everolimus e sono stati analizzati mediante il dosaggio QMS Everolimus. È stata calcolata la reattività crociata percentuale. I risultati sono riportati qui di seguito:

Composto analizzato	Concentrazione analizzata (ng/ml)	Concentrazione recuperata (ng/ml)	Reattività crociata percentuale
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	NR
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

NR = non rilevato

Inoltre, sono stati condotti studi per esaminare la reattività crociata dell'antisiero QMS Everolimus con i metaboliti principali del sirolimus. I composti testati sono stati aggiunti all'emolizzato di sangue umano contenente 5,5 ng/ml di farmaco con everolimus e sono stati analizzati mediante il dosaggio QMS Everolimus. È stata calcolata la reattività crociata percentuale. I risultati sono riportati qui di seguito.

Sirolimus e metaboliti del sirolimus			
Composto analizzato	Concentrazione analizzata (ng/ml)	Concentrazione recuperata (ng/ml)	Reattività crociata percentuale
Sirolimus	10	9,94	46
Triidrossi-sirolimus; 7,41-O-didesmethyl sirolimus	90	9,34	4
41-O-desmethyl-idrossi sirolimus	90	8,55	3
41-O-desmethyl-idrossi sirolimus; 7-O-desmethyl sirolimus	90	7,29	2
11-idrossi sirolimus	90	16,43	12
Isomero di 11-idrossi sirolimus	90	11,00	6
Idrossi sirolimus	90	6,96	2
Sirolimus N-ossido	90	12,10	7
Isomero di ossidril sirolimus o sirolimus N-ossido	90	6,71	1
41-O-desmethyl sirolimus; 32-O-desmethyl sirolimus	30	18,32	45

Sostanze endogene

I seguenti composti, quando analizzati con il dosaggio QMS Everolimus alle concentrazioni indicate, hanno consentito la rilevazione dell'everolimus con una percentuale di errore inferiore al 10%. I risultati sono riportati qui di seguito.

Sostanza interferente	Concentrazione interferente	N	Everolimus (ng/ml)	Recupero percentuale
Bilirubina	60 mg/dl	10	4,45	95,86
Colesterolo	347 mg/dl	3	4,22	101,10
Creatinina	5 mg/dl	3	5,40	99,60
Gammaglobulina	12 g/dl	3	4,06	92,86
HAMA tipo 1*	Livello umano normale	3	4,22	102,92
HAMA tipo 2*	Livello umano normale	3	4,22	95,02
Ematocrito	60%	10	4,18	101,89
Fattore reumatoide	1.350 UI	3	4,22	101,42
Proteine totali	12 g/dl	3	4,06	105,17
Trigliceridi	1.500 mg/dl	3	4,22	100,60
Acido urico	40 mg/dl	3	4,22	99,53

*HAMA = anticorpi umani antimurini

Reattività crociata con farmaci

È stata analizzata la reattività crociata con farmaci generalmente somministrati con l'everolimus. Le sostanze con potenziale reattività crociata sono state analizzate in un emolisato addizionato con everolimus a 5-6 ng/ml. Sono stati analizzati i seguenti composti.

Composto	Concentrazione testata µg/ml	Reattività crociata percentuale
Acetaminofene	200	NR
N-Acetilprocainamide	120	NR
Aciclovir	1.000	0,0
Albuterolo	0,18	NR
Allopurinolo	60	NR
Amikacina	150	0,0
Anfotericina B	100	0,0
Acido ascorbico	30	NR
Atenololo	40	NR
Azotioiprina	10	NR
Bactrim (5:1 Sulfametossazolo: Trimetoprim)	525 Sulfametossazolo: 45 Trimetoprim	0,0
Caffeina	100	NR
Captopril	50	0,0
Carbamazepina	120	0,0
Cefacloro	230	NR
Cloramfenicolo	250	NR
Cimetidina	100	NR
Ciprofloxacina	250	0,0
Ciclosporina A	1	NR
Digossina	0,01	-2,0
Disopiramide	30	0,0
Eritromicina	200	0,0
Etanolo	3.500	NR
Fluconazolo	75	0,0
Flucitosina	300	0,0
Acido folico	0,01	NR
Furosemide	100	NR
Ganciclovir	1.000	NR
Gemfibrozil	75	NR
Gentamicina	20	NR
Glipizide	60	NR

(continua)

Composto	Concentrazione testata µg/ml	Reattività crociata percentuale
Glibenclamide	40	NR
Eparina	16	0,0
Iralazina	32	NR
Idroclorotiazide	40	NR
Ibuprofene	400	NR
Insulina	0,0167	1,0
Intralipid	15.000	NR
Isoniazide	70	NR
Isoproterenolo HCl (cloridrato)	0,06	NR
Itraconazolo	17	NR
Kanamicina A	100	NR
Kanamicina B	100	NR
Ketoconazolo	10	NR
Labetalolo	200	NR
Lidocaina	100	NR
Litio	22,2	NR
Lovastatina	4	0,0
Metformina HCl	5.100	NR
Meticillina	240	NR
Methotrexate	910	NR
Metoclopramide	4	NR
Misoprostolo	0,015	NR
Solfato di morfina	6	NR
Acido micofenolico	250	NR
Nadololo	333	NR
Naproxene	1.000	0,0
Niacina	800	NR
Nifedipina	120	0,0
Omeprazolo	14	NR
Sodio pantoprazolo	15	0,0
Penicillina G	100	0,0
Fenobarbital	150	NR
Fenitoina	100	0,0
Piperacillina	8	NR
Prazosina	25	NR
Prednisone	12	NR
Prednisolone	12	NR
Primidone	100	0,0
Procainamide	25	NR
Propanololo	0,5	NR
Quinidina	100	NR
Ranitidina	200	NR
Rifampicina	50	0,0
Acido salicilico	500	NR
Sotrastaurina	40	0,0
Spectinomicina	100	NR
Sulfametossazolo	400	0,0
Tacrolimus	0,04	1,0
Teofillina	250	NR
Tobramicina	20	NR

(continua)

Composto	Concentrazione testata µg/ml	Reattività crociata percentuale
Triamterene	600	0,0
Trimetoprim	20	NR
Valganciclovir HCl	36	0,0
Acido valproico	1.000	0,0
Vancomicina	630	NR
Verapamil	10	NR

NR = non rilevabile. La reattività crociata è considerata non rilevabile se la differenza tra il campione arricchito e il controllo è inferiore alla deviazione standard delle repliche di controllo.

Bibliografia

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.

Glossario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Assistenza clienti e tecnica USA
1-800-232-3342



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



Per aggiornamenti del foglietto illustrativo, andare all'indirizzo:
www.thermofisher.com/diagnostics

Altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific locale.

© 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati.

Certican® è un marchio registrato di Novartis®. Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà di Thermo Fisher Scientific e delle sue consociate.

0160060-J-IT
2019 07

thermo
scientific