QMS® Everolimus (EVER)

thermo scientific

IVD **Len na diagnostické použitie in vitro**

REF **0373852**

Pred použitím systému Quantitative Microsphere System (QMS) si pozorne prečítajte tento príbalový leták. Návod uvedený v príbalovom letáku je potrebné dodržiavať. Ak dôjde k akýmkoľvek odchýlkam od návodu uvedeného v tomto príbalovom letáku, nemožno zaručiť presnosť výsledkov testu.

Plánované použitie

Everolimový test QMS® je určený na kvantitatívne stanovenie everolimu v plnej ľudskej krvi pomocou automatických klinických chemických analyzátorov.

Everolimový test QMS je určený na použitie ako pomôcka pri manažmente pacientov, ktorým sa podáva everolimová liečba pri tých transplantáciách orgánov, ktoré sú uvedené v tabuľke pre jednotlivé krajiny. V nasledujúcej tabuľke sú krížikom označené prípady, keď bolo udelené povolenie na uvedenie lieku na trh pre určitý typ transplantátu.

Štát	Typ transplantátu			Štát	Typ transplantátu		
	Oblička	Srdce	Pečeň		Oblička	Srdce	Pečeň
Argentína	X	X	X	Libanon	X	X	X
Austrália	X	X		Litva	X	X	X
Rakúsko	X	X	X	Luxembursko	X	X	X
Bahrajn	X	X	X	Malajzia	X	X	
Belgicko	X	X	X	Malta	X	X	X
Brazília	X	X	X	Holandsko	X	X	X
Bulharsko	X	X	X	Nový Zéland	X	X	X
Kanada	X			Nórsko	X	X	X
Čile	X	X	X	Omán	X	X	X
Kolumbia	X	X		Peru	X	X	
Kostarika	X	X	X	Filipíny	X	X	X
Cyprus	X	X	X	Poľsko	X	X	X
Česká republika	X	X	X	Portugalsko	X	X	X
Dánsko	X	X	X	Katar	X	X	
Dominikánska republika	X	X		Rumunsko	X	X	X
Ekvádor	X	X		Rusko	X	X	
Egypt	X	X	X	Saudská Arábia	X	X	X
Estónsko	X	X	X	Singapur	X	X	X
Fínsko	X	X	X	Slovensko	X	X	X
Francúzsko	X	X	X	Slovinsko	X	X	X
Nemecko	X	X	X	Južná Afrika	X	X	X
Grécko	X	X	X	Kórejská republika	X	X	X
Hongkong	X	X	X	Španielsko	X	X	X
Maďarsko	X	X	X	Švédsko	X	X	X
Island	X	X	X	Švajčiarsko	X	X	X
India	X	X		Taiwan	X	X	X
Taliansko	X	X	X	Thajsko	X	X	X
Jordánsko	X	X		Turecko	X	X	X
Kuvajt	X	X		Venezuela	X	X	
Lotyšsko	X	X	X				

Súhrn a vysvetlenie testu

Everolimus je makrolidové imunosupresívum vyrobené chemickou úpravou prírodného rapamycínu. Rapamycín produkujú určité kmene Streptomyces hygroscopicus.[1]

Stratégia liečby imunosupresívami je zameraná na prevenciu aktivácie T-buniek alebo proliferácie. Everolimus pôsobí ako inhibítor proliferácie. Na bunkovej úrovni everolimus vo všeobecnosti inhibuje proliferáciu buniek stimulovaných rastovým faktorom bez ohľadu na rad buniek alebo príslušný rastový faktor. Inhibícia je reverzibilná, pretože everolimus nie je cytotoxickou zlúčeninou. Everolimus inhibuje reakciu T-buniek na rastové faktory, pričom zastavuje klonovú expanziu aktivovaných T-buniek inhibíciou fáz G1 až S.[3] Kalcineurínové inhibítory, cyklosporín (CsA) a takrolimus zabraňujú aktivácii T-buniek inhibíciou prechodu medzi fázami G0 až G1. Rôzne režimy pôsobenia everolimu a kalcineurínových inhibítorov, ako napríklad cyklosporínu, poskytujú adekvátny dôvod na farmakodynamickú súčinnosť.[1-3]

Sledovanie koncentrácií everolimu v krvi sa odporúča ako pomôcka pri manažmente pacientov s klinickým použitím everolimu.[4,5] Preferovanou matricou je plná krv, pretože pri terapeutických koncentráciách zlúčenina preniká najmä do erytrocytov. Na meranie koncentrácie everolimu v krvi sa používa kvapalinová chromatografia spojená s hmotnostnou spektrometriou.[6-8]

Princípy postupu

Everolimový test QMS je homogénny turbidimetrický imunotest s časticovou intenzifikáciou. Tento test je založený na súťažení medzi liekom vo vzorke a liekom naneseným na mikročasticu o miesta viazania protilátok everolimového protilátkového činidla. Činidlo vo forme mikročastíc s povlakom everolimu sa v prítomnosti anti-everolimového protilátkového činidla a v neprítomnosti konkurenčného liečiva vo vzorke rýchlo aglutinuje. Rýchlosť zmeny absorbancie sa meria fotometricky. Po pridaní vzorky obsahujúcej everolimus sa aglutinačná reakcia čiastočne inhibuje, čím sa spomalí rýchlosť zmeny absorbancie. Možno získať koncentračne závislú klasickú aglutinačnú inhibičnú krivku s maximálnou rýchlosťou aglutinácie pri najnižšej koncentrácii everolimu a s najnižšou rýchlosťou aglutinácie pri najvyššej koncentrácii everolimu.

Činidlá

Everolimus QMS sa dodáva ako súprava troch kvapalných činidiel pripravených na použitie, ktorá obsahuje:

REF	0373852	
	Činidlo 1	1 x 22 ml
	Činidlo 2	1 x 8 ml
PRE	Zrážadlo	1 x 8 ml

Potrebné materiály, ktoré nie sú súčasťou súpravy

REF	**Opis súpravy**
0373860	QMS everolimové kalibrátory CAL A – F: 1 x 3,0 ml
0373878	QMS everolimové kontrolné súpravy úrovne 1 – 3: 1 x 3,0 ml
	Metanol (kvalita HPLC)

Reaktívne zložky

INGRED	**Zložka**	**Koncentrácia**
Činidlo 1	Séra s protilátkami IgM (kozie)	≤ 3,5 %
	Albumín ľudského séra (HSA)	≤ 1,0 %
	Antieverolimové polyklonálne protilátky (králik)	< 1,0 %
	Azid sodný	≤ 0,09 %
Činidlo 2	Mikročastice s povlakom everolimu	< 0,6 %
	Azid sodný	≤ 0,09 %
PRE	Síran meďnatý	≤ 6,4 %
	Azid sodný	≤ 0,09 %

Manipulácia s činidlami a ich skladovanie

- Činidlo 1, Činidlo 2 a **PRE** Pripravené na použitie
- Pred použitím niekoľkokrát prevráťte, aby sa netvorili bublinky.
- Ak sa v zásobníku činidla nachádzajú vzduchové bublinky, odstráňte ich pomocou novej aplikačnej tyčinky. Môžete tiež nechať činidlo postáť pri vhodnej skladovacej teplote, aby sa bublinky rozptýlili. Na odstraňovanie bubliniek nepoužívajte pipetu, aby nedošlo k úbytku objemu.
- Keď sa zásobník Činidlo 1 alebo Činidlo 2 s činidlom vyprázdni, vymeňte oba zásobníky a overte kalibráciu pomocou najmenej dvoch úrovní kontroly podľa stanovených požiadaviek na kontrolu kvality používaných vo vašom laboratóriu. Ak budú výsledky kontroly mimo prijateľných rozmedzí, možno bude potrebná opätovná kalibrácia.
- Informácie o stabilite činidla v prístroji a ďalšie informácie špecifické pre tento systém nájdete v karte parametrov testovacieho systému priloženej k analyzátoru.
- V prípade náhodného rozliatia miesto vyčistite a materiál zlikvidujte podľa štandardných prevádzkových predpisov laboratória a miestnych a štátnych predpisov.
- V prípade, že pri dodaní zistíte poškodenie obalu, obráťte sa na svojho zástupcu technickej podpory (pozrite si zadnú stranu tohto príbalového letáka).

⚠ **UPOZORNENIE:** Bublinky v činidle môžu ovplyvniť správnu detekciu hladiny činidla v zásobníku a spôsobiť nedostatočné nasatie činidla, čo môže skresliť výsledky.

2°C – 8°C Pri skladovaní pri teplote 2 až 8 °C sú neotvorené činidlá stabilné až do dátumu exspirácie.

Činidlá nezmrazujte a nevystavujte ich pôsobeniu teplôt nad 32 °C.

Svetlo môže ovplyvniť stabilitu Činidlo 2. Činidlá uchovávajte v tme.

⚠ Upozornenia a bezpečnostné opatrenia

Na diagnostické použitie in vitro. Nemiešajte materiály zo súprav s rôznymi číslami šarží. Nepoužívajte vzorky, ktoré sú takmer vyprázdnené. Zvýšené množstvo antikoagulantov môže viesť k chybným výsledkom.

☣ **UPOZORNENIE:** Tento produkt obsahuje zložky ľudského pôvodu a potenciálne infekčné zložky. Zložky získané z ľudskej krvi boli testované metódami, ktoré schválil úrad FDA, a zistilo sa, že sú nereaktívne na HBsAg, anti-HIV 1/2 a anti-HCV. Žiadna známa testovacia metóda však nemôže zabezpečiť úplnú istotu, že produkty vyrobené z ľudských zdrojov alebo inaktivované mikroorganizmy nebudú prenášať infekciu. Odporúča sa preto, aby sa všetky materiály ľudského pôvodu považovali za potenciálne infekčné a manipulovalo sa s nimi s použitím primeraných postupov na zabezpečenie biologickej bezpečnosti.

NEBEZPEČENSTVO: Everolimus QMS Činidlo 1 obsahuje ≤ 3,5 % séra obsahujúceho protilátky IgM (kozie) a ≤ 1,0 % králičej polyklonálnej protilátky.
H317 - Môže na pokožke spôsobiť alergickú reakciu.
H334 - V prípade vdýchnutia môže spôsobiť alergiu, vyvolať symptómy astmy alebo spôsobiť problémy s dýchaním.

Vyhýbajte sa vdýchnutiu aerosólu alebo výparov. Na pracovisku sa nesmie nachádzať kontaminovaný pracovný odev. Používajte ochranné rukavice/ochranu očí/ochranu tváre. V prípade nedostatočného vetrania noste ochranu dýchacích ciest. V prípade kontaktu s pokožkou: umyte množstvom mydla a vody. V PRÍPADE VDÝCHNUTIA: v prípade problémov s dýchaním vyveďte postihnutú osobu na čerstvý vzduch a nechajte ju odpočívať v pohodlnej polohe, v ktorej sa jej dobre dýcha. V prípade podráždenia pokožky alebo výskytu vyrážky: vyhľadajte lekársku radu/pomoc. V prípade symptómov týkajúcich sa dýchacích ciest: obráťte sa na TOXIKOLOGICKÉ STREDISKO alebo lekára. Kontaminované oblečenie je pred opakovaným použitím nutné vyprať. Obsah/nádobu zlikvidujte na príslušnom mieste v súlade so všetkými miestnymi, regionálnymi, národnými a medzinárodnými nariadeniami.

UPOZORNENIE: QMS Everolimus REF obsahuje ≤ 6,4 % síranu meďnatého a ≤ 0,09 % azidu sodného.
H400 – Veľmi toxický pre vodné organizmy.
H410 – Veľmi toxický pre vodné organizmy s dlhodobými účinkami.

Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. Zozbierajte uniknutý produkt. Obsah/nádobu zlikvidujte na príslušnom mieste v súlade so všetkými miestnymi, regionálnymi, národnými a nadnárodnými predpismi.

Činidlá použité v zložkách testu obsahujú ≤ 0,09 % azidu sodného. Zabráňte styku s pokožkou a sliznicami. Ďalšie bezpečnostné upozornenia, pokyny na manipuláciu a ošetrenie pri náhodnom vystavení si pozrite v SDS.

Odber vzoriek a manipulácia s nimi
Na everolimový test QMS možno použiť tieto skúmavky na odber vzoriek:

	Sklenené	Plastové
Na plnú krv	EDTA (K_3)	EDTA (K_2)

Iné skúmavky na odber vzoriek neboli overené na použitie s everolimovým testom QMS. Dodržiavajte návod výrobcu na spracovanie všetkých skúmaviek na odber vzoriek.

Používanie takmer prázdnych vzoriek môže viesť k chybám vo výsledkoch. Vzorky možno skladovať až 3 dni pri teplote 2 až 8 °C. Ak sa testovanie oneskorí o viac ako 3 dni, vzorky treba skladovať v zmrazenom stave (-20 °C ± 5 °C) až 28 dní pred testovaním. Svetlo môže negatívne ovplyvniť stabilitu vzorky. Skladované vzorky uchovávajte v tme. Vzorky na everolimový test QMS sa odoberajú pred dávkou (rovnovážna úroveň) na potvrdenie toho, že bola predpísaná primeraná dávka. Rovnovážna koncentrácia je najúčinnejším ukazovateľom terapeutickej úrovne everolimu.[2]

Postup
Postup extrakcie vzoriek, kalibrátorov a kontrolných prípravkov
Extrakty sa musia analyzovať bezprostredne po extrakcii.

1. Pripravte si mikrocentrifugačné skúmavky na extrakciu vzoriek, kalibrátorov a kontrolných prípravkov.
2. Kalibrátory, kontrolné prípravky a vzorky sa pred extrakciou musia úplne rozmraziť a dosiahnuť izbovú teplotu. Vzorky, kalibrátory a kontrolné prípravky dobre premiešajte ich obracaním.
3. Odoberte pipetou presne 300 µl kalibrátora, kontrolného prípravku alebo vzorky, ktoré sa majú testovať, do príslušnej mikrocentrifugačnej skúmavky.
4. Odoberte presne 350 µl metanolu do každej mikrocentrifugačnej skúmavky.
5. Odoberte pipetou presne 50 µl zrážadla everolimu QMS do každej mikrocentrifugačnej skúmavky.
6. Zatvorte okamžite každú mikrocentrifugačnú skúmavku zátkou, aby ste zabránili vyparovaniu, potom prudko miešajte/vortexujte pri najvyššej rýchlosti minimálne 35 sekúnd. Poznámka: možno bude potrebné otočiť skúmavku a premiešať ju, aby ste zaistili úplné premiešanie. Po premiešaní sa farba vzorky má zmeniť z červenej na hnedú.
7. Vložte skúmavky do mikrocentrifúgy a odstreďujte ich aspoň 8 minút rýchlosťou 13 400 x g.
8. Po odstredení odlejte supernatant do príslušného pohárika na vzorku. Dávajte pozor, aby ste nepreliali pevné čiastočky a bubliny. Položte poháriky na prístroj.
9. Okamžite začnite kalibráciu analyzátora alebo proces testovania, aby ste minimalizovali vyparovanie vzoriek.
10. Extrakty po analýze zlikvidujte. Na opakované testovanie vzoriek je potrebná čerstvá extrakcia.

Používanie čiarového kódu
Štítky činidiel obsahujú špeciálny systémový čiarový kód, ktorý väčšina analyzátorov ignoruje, ak sa nerozpoznajú.
Ak analyzátor vráti chybový kód, prekryte čiarový kód pevnou farebnou páskou.
V prípade potreby požiadajte o pomoc technické služby.

Postup testu
Test sa vykonáva pri vlnovej dĺžke 700 nm. Podrobný opis uskutočnenia a kalibrovania testu nájdete v návode na používanie prístroja.

Postup riedenia vzoriek
Na manuálne riedenie vzoriek mimo linearity testu použite kalibrátor A everolimu QMS (0,0 ng/ml).

Protokol manuálneho riedenia
Manuálne riedenie možno uskutočniť na vzorkách pacientov s udávanými koncentráciami everolimu vyššími ako 20,0 ng/ml zriedením vzorky kalibrátorom A everolimu QMS (0,0 ng/ml) v pomere 1:1 pred extrahovaním vzorky. Riedenie sa musí uskutočniť tak, aby bola hodnota výsledku testu zriedenej vzorky vyššia ako citlivosť testu 1,5 ng/ml. Udávanú koncentráciu treba vynásobiť faktorom manuálneho zriedenia, čím sa získa konečná koncentrácia vzorky.

$$\text{Konečná koncentrácia vzorky} = \text{udávaná koncentrácia} \times \text{faktor manuálneho zriedenia}$$

$$\text{Faktor manuálneho zriedenia} = \frac{\text{(objem vzorky + objem kalibrátora A)}}{\text{objem vzorky}}$$

Kalibrácia
Everolimový test QMS sa musí kalibrovať úplným kalibračným (6-bodovým) postupom. Úplná kalibrácia sa uskutočňuje duplikátnym testovaním everolimových kalibrátorov QMS A,B,C,D,E a F. Kalibrácia je nutná pri každom novom čísle šarže. Overte kalibračnú krivku pomocou najmenej dvoch úrovní kontroly podľa stanovených požiadaviek na kontrolu kvality používaných vo vašom laboratóriu. Ak budú výsledky kontroly mimo prijateľných rozmedzí, musí sa prijať nápravné opatrenie.

Poznámka: Kalibrátor A everolimu je prázdna kalibračná vzorka pre tento test.

Kontrola kvality
Ďalšie požiadavky na kontrolu kvality a potenciálne nápravné opatrenia môžu prípadne vyplynúť zo štandardných prevádzkových predpisov a plánu zabezpečenia kvality vášho laboratória. Všetky požiadavky na kontrolu kvality sa musia uplatňovať v súlade s miestnymi, štátnymi a vládnymi predpismi alebo akreditačnými požiadavkami. Každé laboratórium musí stanoviť svoje vlastné rozmedzia kontroly a frekvenciu kalibrácie.

Odporúčané požiadavky na kontrolu pre everolimový test QMS:

- Majú sa vykonávať minimálne dve úrovne kontroly presahujúce rozsah lekárskeho rozhodnutia tak často, ako je potrebné pre šarže na extrakciu.
- Ak je potrebné častejšie monitorovanie kontroly, postupujte podľa zavedených postupov kontroly kvality používaných vo vašom laboratóriu.
- Ak výsledky kontroly kvality nespadajú do prijateľného rozmedzia určeného vaším laboratóriom, hodnoty pacientov môžu byť podozrivé a musia sa upraviť.

Výsledky
Výsledky everolimového testu QMS sa udávajú v jednotkách ng/ml.

Rovnako ako všetky určenia analytov, aj hodnota everolimu sa musí používať v spojení s informáciami dostupnými z klinických hodnotení a ďalších diagnostických postupov.

Kódy chýb výsledkov
Niektoré výsledky môžu obsahovať kódy chýb výsledkov. Opis kódov chýb nájdete v návode na používanie príslušného prístroja.

Obmedzenia postupu
Everolimový test QMS je určený len na presné testovanie klinických vzoriek pacientov a vzoriek s umelo nezvýšeným obsahom analytu.

V rámci everolimového testu QMS sa musia používať iba kalibrátory a kontrolné prípravky everolimu QMS. Presné kvantitatívne stanovenie everolimu sa nepodarí získať, ak sa pri kalibrácii v rámci everolimového testu QMS nepoužije everolimová kalibračná súprava QMS REF (0373860).

U pacientov, ktorým bol práve podaný sirolimus, sa tento test nemá vykonávať (až kým sa úplne neodbúra pôvodná zlúčenina sirolimu a metabolity), pretože test sa vzájomne ovplyvňuje so sirolimom a jeho metabolitmi.

V bežnej populácii sa s nízkou frekvenciou vyskytujú rušivé heterofilné protilátky. V zriedkavých prípadoch sa heterofilné protilátky môžu nachádzať aj vo vzorkách pacientov. Tieto protilátky môžu spôsobiť autoaglutináciu mikročasticového činidla, ktorá vedie k chybne nízkym výsledkom.

Na diagnostické účely sa výsledky testu majú vždy hodnotiť v spojení s anamnézou pacienta, klinickými vyšetreniami a ďalšími nálezmi.

Pozrite si časti „Odber vzoriek a manipulácia s nimi“ a „Špecifické charakteristiky testu“ tohto príbalového letáka.

Očakávané hodnoty
Všeobecný terapeutický rozsah everolimu v plnej krvi je 3 – 8 ng/ml. Komplexnosť klinického stavu, individuálne rozdiely v citlivosti na imunosupresíva a nefrotoxické účinky everolimu, súčasné podávanie iných imunosupresív, typ transplantácie, čas po transplantácii a množstvo iných faktorov prispievajú k rôznym požiadavkám na optimálne úrovne everolimu v krvi. Jednotlivé hodnoty everolimu preto nemožno použiť ako samostatný ukazovateľ pri vykonaní zmien v liečebnom režime. Pred vykonaním zmien v liečebnom režime musí každý pacient byť úplne klinicky vyšetrený. Každý používateľ musí stanoviť rozsah na základe klinických skúseností. Terapeutické rozsahy kolíšu v závislosti od použitej metódy, a preto ich treba stanoviť pre každú metódu. Hodnoty získané pomocou rozličných metód nemožno vzájomne zamieňať z dôvodu rozdielov v metódach a skríženej reaktivity s metabolitmi a nesmú sa používať ani korekčné faktory. Odporúča sa preto konzistentné používanie testu pre jednotlivých pacientov. Možná úprava dávky sa nemá zakladať len na rovnovážnej vzorke.

Špecifické charakteristiky testu
Nasledujú reprezentatívne výsledky získané na komerčne dostupnom automatickom biochemickom analyzátore, ktorý používa turbidimetrickú kvantitatívnu analýzu.

Vyhlásenie: Nie všetky populácie s transplantovanými orgánmi boli overené vo všetkých regulačných regiónoch. Použitia špecifické pre jednotlivé krajiny nájdete v tabuľke v časti Plánované použitie.

Citlivosť
Hranica kvantifikácie (LOQ) everolimového testu QMS je definovaná ako najnižšia koncentrácia, pre ktorú bola pozorovaná prijateľná presnosť medzi testami a výťažnosť (často sa považuje za ≤ 20 % CV s výťažnosťou ±15 %). Hodnota LOQ bola stanovená na 1,3 ng/ml.

Rozsah testu
Rozsah testu je 1,5 až 20 ng/ml.

Správnosť
Štúdie linearity sa uskutočnili riedením vzorky pacienta na koncentrácie v rámci rozsahu testu. Riedenie bolo vykonané s hemolyzátom z plnej krvi. Linearita pri konkrétnych riedeniach sa považovala za prijateľnú, ak percento výťažnosti bolo 100 ± 10.

Linearita

Teoretická koncentrácia (ng/ml)	Priem. 12 opak.	% CV	% výťažnosti
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

Porovnanie metód

Štúdia korelácie sa vykonala pomocou 150 vzoriek pacientov s transplantovanou obličkou. Výsledky everolimového testu QMS sa porovnali s výsledkami LC/MS. Výsledky regresnej analýzy Passing-Bablok[9] pre túto štúdiu sú uvedené ďalej.

Sklon	1,11
Priesečník s osou Y	-0,005
Korelačný koeficient (R)	0,96
Počet vzoriek	150

Druhá štúdia korelácie sa vykonala pomocou 41 vzoriek pacientov s transplantovaným srdcom. Výsledky everolimového testu QMS sa porovnali s výsledkami LC/MS. Výsledky regresnej analýzy Passing-Bablok sú uvedené ďalej.

Sklon	1,00
Priesečník s osou Y	-0,15
Korelačný koeficient (R)	0,96
Počet vzoriek	41

Tretia štúdia korelácie sa vykonala pomocou 111 vzoriek pacientov s transplantovanou pečeňou. Výsledky everolimového testu QMS sa porovnali s výsledkami LC/MS. Výsledky regresnej analýzy Passing-Bablok sú uvedené ďalej.

Sklon	0,98
Priesečník s osou Y	-0,06
Korelačný koeficient (R)	0,93
Počet vzoriek	111

Presnosť

Presnosť bola stanovená podľa protokolu NCCLS EP5-A2.[10]

V štúdii bola použitá kontrolná vzorka založená na ľudskej krvi v troch úrovniach s obsahom everolimu a na skupine vzoriek pacientov v troch úrovniach. Každá úroveň sa testovala dvojmo dvakrát denne po dobu 20 dní. Jednotlivé kolá počas dňa sa vykonávali v dvojhodinových intervaloch. Vypočítali sa stredné hodnoty, rozdiel medzi dňami, SD a % CV v rámci cyklu aj v rámci všetkých cyklov. Reprezentatívne výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

			V rámci cyklu		Medzi dňami		Celkové	
Kontrolné	N	Priemer (ng/ml)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	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
Skupiny pacientov								
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

Interferujúce látky

Špecifickosť

Štúdie interferencie sa vykonali pomocou protokolu NCCLS EP7-A ako návodu.[11,12] Krížová reaktivita sa testovala pre dostupné hlavné metabolity everolimu. Testovali sa aj iné lieky, ktoré sa bežne podávajú s everolimom, a endogénne látky na určenie toho, či tieto zlúčeniny ovplyvnili účinnosť kvantifikácie koncentrácií everolimu pomocou everolimového testu QMS.

Metabolity

Vykonávali sa aj štúdie na zisťovanie krížovej reaktivity antiséra everolimu QMS na hlavné metabolity everolimu. Testované zlúčeniny sa pridali v dvoch koncentráciách do hemolyzátu ľudskej krvi, ktorý obsahoval 5 ng/ml lieku s obsahom everolimu a testovali sa pomocou everolimového testu QMS. Vypočítalo sa percento skríženej reaktivity. Výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Testovaná zlúčenina	Testovaná koncentrácia (ng/ml)	Regenerovaná koncentrácia (ng/ml)	% skríženej reaktivity
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	N
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

N = nezistené

Vykonávali sa aj štúdie na zisťovanie skríženej reaktivity antiséra everolimu QMS na sirolimus a jeho hlavné metabolity. Testované zlúčeniny sa pridali do hemolyzátu ľudskej krvi, ktorý obsahoval 5,5 ng/ml lieku s obsahom everolimu, a testovali sa pomocou everolimového testu QMS. Vypočítalo sa percento skríženej reaktivity. Výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke:

Sirolimus a metabolity sirolimu			
Testovaná zlúčenina	Testovaná koncentrácia (ng/ml)	Regenerovaná koncentrácia (ng/ml)	% skríženej reaktivity
Sirolimus	10	9,94	46
Trihydroxy-sirolimus; 7,41-O-didesmetyl sirolimus	90	9,34	4
41-O-desmetyl-hydroxy sirolimus	90	8,55	3
41-O-desmetyl-hydroxy sirolimus; 7-O-desmetyl sirolimus	90	7,29	2
11-hydroxy sirolimus	90	16,43	12
Izomér 11-hydroxy sirolimu	90	11,00	6
Hydroxy sirolimus	90	6,96	2
N-oxid sirolimus	90	12,10	7
Izomér hydroxyl sirolimu alebo N-oxid sirolimu	90	6,71	1
41-O-desmetyl sirolimus; 32-O-desmetyl sirolimus	30	18,32	45

Endogénne látky
Nasledujúce zlúčeniny vykazovali pri testovaní pomocou everolimového testu QMS pri uvedených koncentráciách menej ako 10 % chybu stanovenia everolimu. Výsledky sú uvedené v nasledujúcej tabuľke.

Interferujúca látka	Koncentrácia interferencie	N	Everolimus (ng/ml)	% výťažnosti
Bilirubín	60 mg/dl	10	4,45	95,86
Cholesterol	347 mg/dl	3	4,22	101,10
Kreatinín	5 mg/dl	3	5,40	99,60
Gamma globulín	12 g/dl	3	4,06	92,86
HAMA typ 1*	Normálna hladina u človeka	3	4,22	102,92
HAMA typ 2*	Normálna hladina u človeka	3	4,22	95,02
Hematokrit	60 %	10	4,18	101,89
Reumatoidný faktor	1 350 IU	3	4,22	101,42
Celkový proteín	12 g/dl	3	4,06	105,17
Triglycerid	1 500 mg/dl	3	4,22	100,60
Kyselina močová	40 mg/dl	3	4,22	99,53

*HAMA (human anti-mouse antibodies) = ľudské protilátky proti myším protilátkam

Skrížená reaktivita lieku
Skrížená reaktivita sa testovala s liekmi, ktoré sa bežne podávali s everolimom. Skrížené reaktanty sa analyzovali v hemolyzáte so zvýšeným obsahom everolimu pri 5 – 6 ng/ml. Testovali sa tieto zlúčeniny.

Zlúčenina	Koncentrácia Testované µg/ml	% skríženej reaktivity
Acetaminofén	200	N
N-Acetylprokaínamid	120	N
Acyclovir	1 000	0,0
Albuterol	0,18	N
Alopurinol	60	N
Amikacin	150	0,0
Amfotericín B	100	0,0
Kyselina askorbová	30	N
Atenolol	40	N
Azotioprín	10	N
Bactrim (5:1 Sulfametoxazol: Trimetoprim)	525 Sulfametoxazol 45 Trimetoprim	0,0
Kofeín	100	N
Kaptopril	50	0,0
Karbamazepin	120	0,0
Cefaklor	230	N
Chloramfenikol	250	N
Cimetidín	100	N
Ciprofloxacín	250	0,0
Cyklosporín A	1	N
Digoxín	0,01	-2,0
Dizopyramid	30	0,0
Erytromycín	200	0,0
Etanol	3 500	N
Flukonazol	75	0,0
Flucytozín	300	0,0
Kyselina listová	0,01	N
Furosemid	100	N
Ganciklovir	1 000	N
Gemfibrozil	75	N
Gentamicín	20	N
Glipizid	60	N

Pokračovanie tabuľky

Zlúčenina	Koncentrácia Testované µg/ml	% skríženej reaktivity
Glyburid	40	N
Heparín	16	0,0
Hydralazín	32	N
Hydrochlórotiazid	40	N
Ibuprofén	400	N
Inzulín	0,0167	1,0
Intralipid	15 000	N
Izoniazid	70	N
Izoproterenol HCl	0,06	N
Itrakonazol	17	N
Kanamycín A	100	N
Kanamycín B	100	N
Ketokonazol	10	N
Labetalol	200	N
Lidokaín	100	N
Lítium	22,2	N
Lovastatín	4	0,0
Metformín HCl	5 100	N
Meticilín	240	N
Metotrexát	910	N
Metoklopramid	4	N
Mizoprostol	0,015	N
Morfín sulfát	6	N
Kyselina mykofenolová	250	N
Nadolol	333	N
Naproxén	1 000	0,0
Niacín	800	N
Nifedipín	120	0,0
Omeprazol	14	N
Pantoprazol sodný	15	0,0
Penicilín G	100	0,0
Fenobarbital	150	N
Fenytoín	100	0,0
Piperacilín	8	N
Prazosín	25	N
Prednizón	12	N
Prednizolón	12	N
Primidón	100	0,0
Prokaínamid	25	N
Propanolol	0,5	N
Chinidín	100	N
Ranitidín	200	N
Rifampin	50	0,0
Kyselina salicylová	500	N
Sotrastaurin	40	0,0
Spektinomycín	100	N
Sulfametoxazol	400	0,0
Takrolimus	0,04	1,0
Teofylín	250	N
Tobramycín	20	N

Pokračovanie tabuľky

Zlúčenina	Koncentrácia Testované µg/ml	% skríženej reaktivity
Triamterén	600	0,0
Trimetoprim	20	N
Valganciclovir HCl	36	0,0
Kyselina valproová	1 000	0,0
Vankomycín	630	N
Verapamil	10	N

N = nezistiteľné. Skrížená reaktivita sa považuje za nezistiteľnú, ak je rozdiel medzi vzorkou s postupne zvyšovanou koncentráciou a kontrolnou vzorkou menší ako štandardná odchýlka od kontrolných opakovaní.

Referenčná literatúra

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, etal. 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.

Glosár:
http://www.thermofisher.com/symbols-glossary

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Podpora pre zákazníkov
a technická podpora v USA:
1-800-232-3342

EC REP
B·R·A·H·M·S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Aktualizácie príbalového letáka nájdete na adrese:
www.thermofisher.com/diagnostics

Ostatné štáty:
Kontaktuje miestneho zástupcu spoločnosti Thermo Fisher Scientific.

© 2019 Thermo Fisher Scientific Inc. Všetky práva vyhradené.

Certican® je registrovanou značkou spoločnosti Novartis®. Všetky ostatné ochranné známky sú vlastníctvom spoločnosti Thermo Fisher Scientific a jej dcérskych spoločností.

0160060-3-SK
2024 01

thermo scientific