QMS® Tacrolimus Immunoassay

thermo scientific

Rx Only

REF 10015556

За *употреба само при* ин витро диагностика

Тази листовка за количествена микросферна система (QMS) трябва да бъде прочетена внимателно преди употреба. Инструкциите в листовката трябва да бъдат съответно изпълнявани. Надеждността на резултатите от анализа не може да бъде гарантиране, ако има отклонения от инструкциите в листовката.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Имуноанализът QMS Tacrolimus е предназначен за количествено определяне на такролимус в човешка цяла кръв с автоматизирани биохимични анализатори. Получените резултати се използват в помощ при лечението на пациенти с бъбречна, чернодробна и сърдечна трансплантация, провеждащи терапия с такролимус. Това ин витро диагностично средство е предназначено за употреба само в клинична лаборатория.

РЕЗЮМЕ И ОБЯСНЕНИЕ НА ИЗСЛЕДВАНЕТО

Tacrolimus (FK506, PROGRAF®) е макролиден антибиотик с гъбичен произход – *Streptomyces tsukubaensis,* с мощна имуносупресивна функция при предписване на пациенти с бъбречна и чернодробна трансплантация.[1] Такролимус е инхибитор на калциневрина, който по природа е фосфатаза и активира Т-клетъчната пролиферация.[2-4] При клетъчни събития такролимус се свързва със семейство свързващи протеини, наречено FKBPs (FK506 свързващи протеини), като формира пентамерен комплекс, включващ такролимус, FKBP, калциневрини А и В, и калмодулин.[2-5] Пентамерната формация води до потискане на фосфатазната активност на калциневрина, необходим за активиране на факторите на транскрипция за транспортиране в клетъчното ядро. Така се уврежда генната експресия на Т-лимфоцитите, особено за цитокини като IL-2, и се стига до имуносупресивен ефект при пациентите.[2-5]

Разпределението на такролимус между цялата кръв и плазмата зависи от няколко фактора, като хематокрит, лекарствена концентрация и концентрация на плазмения протеин. Съотношението на концентрацията в цяла кръв към плазма е средно 35 (диапазон 12 до 67).[6-7] Такролимус се метаболизира екстензивно от системата P-450, основно CYP3A.[8-11] Лекарството се метаболизира до най-малко 8 метаболита (M-I – M-VIII) чрез деметилиране и хидроксилиране.[12] Средният полу живот на такролимус ин виво се определя на 48 часа.[8-11] Освен това се съобщава за голяма вариабилност в отделния пациент и между пациентите по отношение концентрацията на такролимус в цяла кръв.[13] Препоръчва се внимателно и често мониториране на такролимус.[14]

ПРИНЦИПИ НА ПРОЦЕДУРАТА

Имуноанализът QMS Tacrolimus представлява усилен с хомогенни частици турбидиметричен имуноанализ. Анализът се основава на конкуренцията между лекарството в пробата и покрита с лекарство микрочастица по отношение местата за свързване на антитела на реагента с антитела срещу такролимус. Реагентът с покрити с такролимус микрочастици бързо се аглутинира в присъствието на реагент с анти-накролимус антитела и при отсъствието на конкурентен медикамент в пробата. Скоростта на промяната в абсорбцията се измерва фотометрично на 700 nm. Когато се добави проба, съдържаща такролимус, реакцията на аглутинация частично се потиска, забавяйки скоростта на промяна на абсорбцията. Може да се получи класическа крива на зависимо от концентрацията потискане на аглутинацията с максимална скорост на аглутинация при най-ниската концентрация на такролимус и най-ниска скорост на аглутинация при най-високата концентрация на такролимус.

РЕАГЕНТИ

Комплект реагенти

QMS Tacrolimus – **REF** 10015556, се предлага като течен, готов за употреба, три реагентен комплект, който съдържа:

REAGENT 1 1 x 18 ml

REAGENT 2 1 x 12 ml

EXT Реагент за екстракция 1 x 50 ml (изисква се работен разтвор, вж. т. 2, Подготовка на разтвор за екстракция)

Реактивни съставки

INGRED	Съставка	Концентрация
REAGENT 1	Анти-Tacrolimus моноклонално антитяло (заешко)	<1,0%
	Натриев азид	0,09%
REAGENT 2	Покрити с Tacrolimus микрочастици	<0,3%
	Натриев азид	0,09%
EXT	Натриев азид	0,09%

РАБОТА С РЕАГЕНТИТЕ И СЪХРАНЕНИЕ

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** и **EXT** (Реагент за екстракция) готов за употреба
- Преди употреба обърнете няколко пъти, като избягвате образуването на мехурчета.
- Отстранете въздушните мехурчета, ако има в касетата с реагент. Алтернативно, оставете реагента на подходяща температура за съхранение, за да може мехурчетата да изчезнат. За да сведете до минимум загубата на обем, не използвайте трансферна пипета за отстраняване на мехурчетата.
- Когато **REAGENT 1** или **REAGENT 2** касетата с реагент се изпразни, сменете и двете касети и проверете калибровката с най-малко една проба за всяко ниво контроли, съгласно установените изисквания за контрол на качеството във вашата лаборатория. Ако контролите са извън приемливите граници, може да се наложи повторна калибровка.
- Направете справка със специфичния за анализатора лист със системните параметри на анализа за специфична за системата информация.
- В случай на инцидентно разливане, почистете и изхвърлете материала съгласно работната процедура на Вашата лаборатория, местните и държавни разпоредби.
- В случай на повредена при получаването опаковка се обадете на Вашия технически представител (прочетете последната страница на тази листовка).

⚠ **ВНИМАНИЕ:** Мехурчетата в реагента може да попречат на правилното отчитане на нивото на реагента в касетата, което причинява недостатъчна аспирация на реагент с последващ ефект върху резултатите.

2°C–8°C Неотворените реагенти са стабилни до датата за срок на годност, когато се съхраняват при 2 до 8°C.

Реагентите да не се замразяват и излагат на температури над 32°C.

⚠ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

- За употреба само при ин витро диагностика. Вземайте обичайните предпазни мерки за обработка на всякакви лабораторни реактиви.
- Да не се смесват материали от комплекти с различни партидни номера.
- Да не се използват реагентни комплекти с изтекъл срок на годност.

ОПАСНОСТ: Имуноанализът QMS Такролимус съдържа ≤3,0% човешки серумен албумин (HSA) и ≤1,0% лекарствено-специфично антитяло (заек).
Реактивът QMS Tacrolimus Extraction съдържа ≤9,0% цинков сулфат (ZnSO4).
H317 - Може да причини алергична кожна реакция.
H334 - Може да причини алергия или астматични симптоми или затруднено дишане, ако се инхалира.
H318 - Причинява сериозно увреждане на очите.
H411 - Токсичен за водните организми, с дълготраен ефект
.
Да се избягва вдишване на мъгли или изпарения. Замърсеното работно облекло не трябва да изнася извън работното място. Носете защитни ръкавици/очна защита/защита на лицето. При неадекватно вентилиране, носете дихателна защита. При попадане върху кожата: Измийте обилно със сапун и вода. ПРИ ИНХАЛИРАНЕ: Ако дишането е затруднено, изведете пострадалия на чист въздух и оставете в покой, в позиция, удобна за дишане. При кожно дразнене или поява на обрив: Осигурете медицинска консултация/помощ. При респираторни симптоми: Обадете се незабавно на ЦЕНТЪР ПО ОТРАВЯНИЯТА или на лекар. Изперете защитното облекло преди повторна употреба. Изхвърляйте съдържанието/контейнера на място съгласно местните/регионалните/националните/международните изисквания.

Избягвайте освобождаване в околната среда. Носете защитни ръкавици/очна защита/защита на лицето. ПРИ ПОПАДАНЕ В ОЧИТЕ: Изплаквайте внимателно с вода няколко минути. Свалете контактните лещи, ако имате такива и може лесно да се направи. Продължете да изплаквате. Обадете се незабавно на Център по отравянията или на лекар. Съберете разпиляното. Изхвърляйте съдържанието/контейнера на място съгласно местните/регионалните/националните/международните изисквания.

⚠ **ВНИМАНИЕ:** Материалите с човешки произход са изследвани за HIV1 и 2, хепатит B и хепатит C с одобрен от FDA метод и резултатите са отрицателни. Тъй като обаче няма метод за изследване, който с абсолютна сигурност да изключи потенциалния риск от инфекция, с материала трябва да се борави толкова внимателно, колкото и с проба от пациент. В случай на контакт трябва да се следват указанията на съответните здравни власти.

Реагентите, използвани в компонентите на анализа, съдържат ≤0,09% натриев азид. Да се избягва контакт с кожата и лигавиците. За допълнителни предпазни мерки прочетете листа във връзка с безопасността, инструкциите за работа и лечение при инцидентна експозиция.

ВЗЕМАНЕ И ОБРАБОТКА НА ПРОБИ

- Може да се използват само проби цяла кръв, взети в EDTA епруветки. За всички епруветки за вземане на проби следвайте указанията за работа на производителя. Следва да се внимава за съхраняване целостта на пробата от момента на вземането й до извършването на анализа. Пробите трябва да се етикетират както при вземането на пробата, така и при последното приложение на лекарство.
- На пробите трябва да се постави капачка и да се изследват до 7 дни при съхранение на 2-8°C или до 6 месеца при съхранение на ≤ -20°C.[6,10-11] Да се избягва повторна замразяване и разтапяне. Пробите не трябва да се разпенват.

ПРОЦЕДУРА

Предоставени материали

• Комплект реагенти QMS Tacrolimus – REF 10015556

Необходими материали, които не се предоставят

• QMS Калибратори за Tacrolimus – REF 10015573, CAL A: 1 x 4 ml, CAL B-F: 1 x 2 ml всяка
• Продукти за контрол на качеството
  Препоръчителни материали:
  • MORE Диагностични Rap/Tac/CsA контроли,
    LOW, 280-Q: 4 x 4 ml всяка
    MID, 280-1: 4 x 4 ml всяка
    HIGH, 280-2: 4 x 4 ml всяка
  • За други, предлагани в търговската мрежа продукти за контрол на качеството, се обадете на Thermo Fisher Scientific Technical Support
• Метанол, HPLC степен (≥ 99,8% чистота)
• Микроцентрофужни епруветки с кръгло дъно
• Автоматизиран биохимичен анализатор

Подготовка на пробата

Забележка: Моля, съблюдавайте листовката с инструкции и препоръки за обработка от съответния доставчик, ако е предоставена, за контроли.

Всички калибратори и проби от пациента трябва да се акламатизират на стайна температура преди екстракция. Калибраторите трябва да се размесват най-малко 15-20 минути, а пробите на пациента трябва да бъдат добре размесени на стайна температура преди употреба. Размесвайте калибраторите и пробите на пациента с внимателно обръщане (за предпочитане е използване на устройство). Да се избягва образуването на мехурчета.

Приготвяне на разтвор за екстракция

1. Добавете точно 10 ml на стайна температура от реагента за екстракция в чиста, суха, обезвъздушена бутилка.
2. Добавете точно 40 ml HPLC Grade метанол (≥ 99,8% чистота) към бутилката и леко размесете. Поставете етикет „Работен разтвор за екстракция на такролимус". Запишете на етикета текущата дата и датата за срок на годност (2 седмици от датата на приготвянето). Да се съхранява на стайна температура.

Процедура на екстракция за проби, калибратори и контроли

ЗА ОПТИМАЛНИ РЕЗУЛТАТИ СЛЕДВАЙТЕ ТОЧНО СТЪПКИТЕ ДАДЕНИ ПО-ДОЛУ. ЕКСТРАКТИТЕ ТРЯБВА ДА СЕ ИЗСЛЕДВАТ НЕЗАБАВНО СЛЕД ЕКСТРАКЦИЯТА.

1. Пригответе и етикетирайте микро-центрофужни епруветки с кръгло дъно за екстракция за проби, калибратори и. контроли. Пригответе по една микроцентрофужна епруветка за всяка проба.
2. Използвайте пипета, за да отмерите точно по 200 µl от всяка проба, калибратор или контрола в етикетирана микроцентрофужна епруветка. Аспирирайте проба с пипетата, леко избършете накрайника на пипетата в ръба на флакона с проба, за да отстраните излишното количество проба, след което поставете пробата по вътрешната страна на микроцентрофужната епруветка. **Забележка:** Проверете накрайника на пипетата, за да сте сигурни, че в него няма мехурчета. Въздух в накрайника е потенциален източник на неточност.
3. Използвайте пипета, за да отмерите точно 200 µl разтвор за екстракция в микроцентрофужна епруветка. Когато приготвяне множество проби, препоръчително е да използвате специална пипета за аспириране и поставяне на разтвора за екстракция. Отстранете мехурчетата въздух в пипетния накрайник преди да поставите разтвора за екстракция.
4. Поставете капачка и незабавно пуснете на вортекс миксер микроцентрофужната епруветка при максимална скорост за 15-30 секунди. Проверете всяка епруветка за хомогенност на сместа. Ако се открият неразмесени проби, отделете несмесената част и пуснете отново на вортекс миксер.
5. Оставете сместа в микроцентрофужната епруветка в покой на стайна температура за 5-7 минути.
6. Поставете микроцентрофужната епруветка в центрофуга и центрофугирайте за 5 минути при об/мин, еквивалентни на 15 000–16 000 x g.
7. Декантирайте супернатанта в чашка за проба (избягвайте образуването на мехурчета) и незабавно пуснете за измерване, за да намалите до минимум ефекта от изпарението на пробата. Не почуквайте по капачката за отделяне на последната капка по начин, който би могъл да наруши пелетите.
8. След анализа изхвърлете екстрактите. Повторното изследване на проби изисква пресни екстракти.

Забележка: Допълнителни съвети и препоръки относно стъпките за екстракция на пробата при имуноанализа QMS Tacrolimus може да получите и от Thermo Fisher Scientific Technical Support.

Процедура на анализа

За подробно описание на това, как да провеждате и калибрирате анализ, прочетете специалната за апарата инструкция за работа.

Процедура на разреждане на проба

Използвайте QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml) за ръчно разреждане на проби извън линейността на анализа.

Протокол на ръчно разреждане

Ръчно разреждане може да се прави на проби от пациенти с отчетени концентрации на такролимус над 30 ng/ml, като се извърши разреждане в съотношение 1:1 на пробата с QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml) преди екстракцията на пробата. Разреждането трябва да се направи така, че резултатът от отчитането на разредената проба да е по-висок от чувствителността на анализа от 1 ng/ml. Отчетената концентрация трябва да бъде умножена по фактора на ръчно разреждане, за да се получи окончателната концентрация на пробата.

Окончателна концентрация на пробата = Отчетена концентрация x Фактор на ръчно разреждане

Фактор на ръчно разреждане = (Обем на пробата + Обем на CAL A) ÷ Обема на пробата

КАЛИБРИРАНЕ

Имуноанализът QMS Tacrolimus трябва да бъде калибриран с използване на пълна (6-точкова) процедура на калибриране. За пълно калибриране проверете QMS Tacrolimus калибратори A, B, C, D, E и F. Само QMS Tacrolimus калибратори трябва да се използват с имуноанализ QMS Tacrolimus. Точно количествено определяне на такролимус не може да се постигне, ако не се използва комплект калибратори QMS Tacrolimus – REF 10015573, за калибриране на имуноанализа QMS Tacrolimus.

Калибриране се налага при всеки нов партиден номер. Проверете калибрационната крива с най-малко една проба за всяко ниво на контроли съгласно установените изисквания за контрол на качеството във вашата лаборатория. Ако резултатите на контролите са извън приемливите граници, трябва да се предприемат действия за корекция.

Честота на калибриране

Повторно калибриране се препоръчва
- След смяна на партидата калибратор или реагент (комплект)
- След извършване на ежемесечната поддръжка на апарата
- Според изискванията след процедури по контрол на качеството

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО

Всички изисквания за контрол на качеството трябва да се следват в съответствие с местните, регионалните и национални разпоредби или акредитационни изисквания.

Според необходимостта направете справка с вашата стандартна оперативна процедура(и) и/или План за контрол на качеството за допълнителни изисквания по контрола на качеството и потенциални коригиращи действия.

Препоръчителни изисквания за контрол за имуноанализа QMS Tacrolimus:
- Трябва да се изследва минимум една проба от всяко ниво на контроли при всяко екстрахиране и анализиране на проба от пациент.
- Ако е нужен по-чест контрол на мониториране, следвайте установените процедури за контрол на качеството за вашата лаборатория.
- Всички изисквания за контрол на качеството трябва да се следват в съответствие с местните, регионалните и национални указания.
- Ако резултатите от контрола на качеството не са в приемливите граници, определени от вашата лаборатория, стойностите на пациента трябва да бъдат суспектни и не трябва да се отчитат. Трябва да се предприемат действия за корекция.

РЕЗУЛТАТИ

Резултатите от имуноанализа QMS Tacrolimus се отчитат в мерни единици ng/ml.

Съобщаване на резултати: Лабораториите трябва да съобщават, че резултатите са получени с метода QMS Tacrolimus.

Кодове за грешен резултат:

Някои резултати може да съдържат кодове за грешен резултат. Прочетете специфичното за апарата указание за работа за описание на кодовете за грешка.

ОГРАНИЧЕНИЯ НА ПРОЦЕДУРАТА

- Концентрациите на такролимус в дадена проба, определени с анализи от различни производители, могат да се различават поради разликите в методите за анализ и специфичността на реагентите. Препоръчва се мониторирането непрекъснато да става с един метод.
- **Имуноанализите са неспецифични и реагират кръстосано с метаболити. Поради това имуноанализите може да оценят много високо концентрацията на такролимус (вж. точката за сравнение на метода). При нарушено елиминиране на такролимус може да се натрупат повече метаболити, което води до още по-високи оценки. В такъв случай следва да се прецени използването на специфичен анализ (напр. хроматографски метод).**
- Интерфериращи хетерофилни антитела се развиват с ниска честота в популацията. Тези антитела могат доведат до грешни резултати (включително грешно ниски резултати, причинени от аглутинация на реагента от микрочастици).

- Резултатите от изследванията винаги трябва да бъдат оценявани съвместно с медицинската анамнеза на пациента, клиничните изследвания и други резултати. Трябва да се прави допълнително изследване за потвърждаване, когато резултатите не съответстват на клиничните доказателства.
- Прочетете листовката към PROGRAF за ефектите на съпровождащо прилагани лекарства и лекарства, които могат да повишат или намалят концентрациите на такролимус.[14]

ОЧАКВАНИ СТОЙНОСТИ

Оптималният терапевтичен диапазон на такролимус в с този метод не е определен. Терапевтичните граници на такролимус може да варират в зависимост от клинични фактори и използваната методология.

Като се има пред вид хетерогенността на клиничното състояние на пациента, клиницистите трябва да установят диапазон за терапевтично поведение на базата на собствения си опит, както и според клиничните изисквания на всеки пациент. Промените в схемата на лечение не трябва да се базират единствено на стойностите на такролимус. Разлики в чувствителността към имуносупресивните и нефротоксични ефекти на такролимус, едновременното приложение на други имуносупресанти, видът на трансплантацията, времето от трансплантацията и редица други фактори допринасят за различните изисквания по отношение на оптималните кръвни нива на такролимус.

Оптималните граници може да варират в зависимост от използваното изследване и поради това трябва да се определят за всяко пазарно достъпно изследване. Стойности, получени с различни аналитични методи, не може да се използват взаимнозаменяемо, поради разликите в методологията и кръстосаната реактивност с метаболити, нито пък да се прилагат фактори за корекция. Препоръчва се за отделните пациенти да се използва постоянно един и същи анализ.

СПЕЦИФИЧНИ ФУНКЦИОНАЛНИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

По-долу са дадени представителни функционални резултати, получени на предлаган на пазара автоматизиран биохимичен анализатор, при който се използва турбиметричен количествен анализ. Освен ако не е декларирано друго, анализите са проведени в съответствие с процедурата за анализ, предоставена тук с анализатор Beckman AU680. Получените в отделните лаборатории резултати може да се различават от тези данни. За допълнителни функционални характеристики специфични за анализатора прочетете протокола за приложение, специфичен за анализатора, или се обадете на Thermo Fisher Scientific Technical Support за съдействие.

Отчитан диапазон

Отчитаният диапазон за имуноанализ QMS Tacrolimus е 1 ng/ml (минимална отчетена стойност на базата на функционална чувствителност) до 30 ng/ml такролимус.

Функционална чувствителност (Квантитативна граница)

Функционалната чувствителност представлява най-ниската концентрация на такролимус, която може да бъде измерена с междуанализна прецизност от 20% CV. Проучването е проведено с проби цяла кръв, инокулирани с такролимус в диапазон от 0,5 до 5,0 ng/ml за едно измерване на серия, два пъти дневно, за 30 дни с общо 60 точки за получаване на резултати. В горната 95% граница на доверителност LoQ е изчислена на 0,9 ng/ml, което е в подкрепа на долната граница на анализа от 1,0 ng/ml. Наблюдаваният процес на възстановяване при 0,9 ng/ml е 102,0%.

Линейност на разреждането

Направено е линейно проучване чрез разреждане на проба с висока концентрация на такролимус, постигната с QMS Tacrolimus калибратор A до концентрации, равномерно разпределени в диапазона на анализа. Процентът на възстановяване се определя, като се раздели измерената концентрация на такролимус на очакваната концентрация. Очакваните концентрации са били определени, като се използва високата изследвана концентрация, умножена по фактор на разреждане.

% висока проба	Очаквана концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)	Възстановяване (%)
100,0%	29,9	29,9	100,0%
90,0%	26,9	26,0	96,8%
80,0%	23,9	22,8	95,4%
70,0%	20,9	19,2	91,8%
60,0%	17,9	17,2	96,1%
50,0%	14,9	14,7	98,6%
40,0%	12,0	11,1	92,7%
30,0%	9,0	8,6	95,7%
20,0%	6,0	6,0	100,0%
10,0%	3,0	3,1	102,9%
5,0%	1,5	1,5	100,4%
3,3%	1,0	1,0	101,4%

Таблицата продължава

% висока проба	Очаквана концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)	Възстановяване (%)
2,8%	0,8	0,8	99,6%
0,0%	0,0	0,0	Неприложимо

Очаквана концентрация = % от високата проба x високата измерена концентрация
Възстановяване (%) = (Измерена концентрация ÷ Очаквана концентрация) x 100

Възстановяване

Отрицателни проби цяла кръв се инокулират с известни количества такролимус в концентрации от целия диапазон. Концентрациите на такролимус на тези проби са проверени с LC-MS/MS и изследвани с имуноанализ QMS Tacrolimus. Резултатите са показани по-долу.

Идентификация на проба	n	Очаквана концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)	Възстановяване (%)
Проба 1	21	2,7	2,7	101,8
Проба 2	21	9,8	10,8	109,4
Проба 3	21	18,0	17,7	98,2
Проба 4	21	19,8	21,3	107,5
Проба 5	21	27,0	27,1	100,4

Възстановяване (%) = (Измерена концентрация ÷ Очаквана концентрация) x 100

Прецизност

Прецизността се оценява с използване на пулова цяла кръв от пациенти и инокулирани проби. Проучването е проведено, както е описано в протокол EP5-A2 на CLSI.[15] Всяка проба е оценена двойно за всеки анализ, два пъти дневно за 20 дни. Изчисляват се средните стойности, както и SD и %CV - в рамките на отделна серия и общо за сериите. Представителните стойности са показани по-долу.

Проби	n	Средна (ng/ml)	В серията		Общо за сериите	
			SD	%CV	SD	%CV
Инокулирана проба A	80	3,0	0,2	4,9%	0,2	7,1%
Инокулирана проба B	80	10,0	0,2	1,9%	0,4	3,6%
Инокулирана проба C	80	20,9	0,4	1,9%	1,1	5,0%
Проба от пациент A	80	3,2	0,1	4,1%	0,2	6,2%
Проба от пациент B	80	10,4	0,2	2,2%	0,4	3,6%
Проба от пациент C	80	24,2	0,5	2,1%	1,1	4,6%

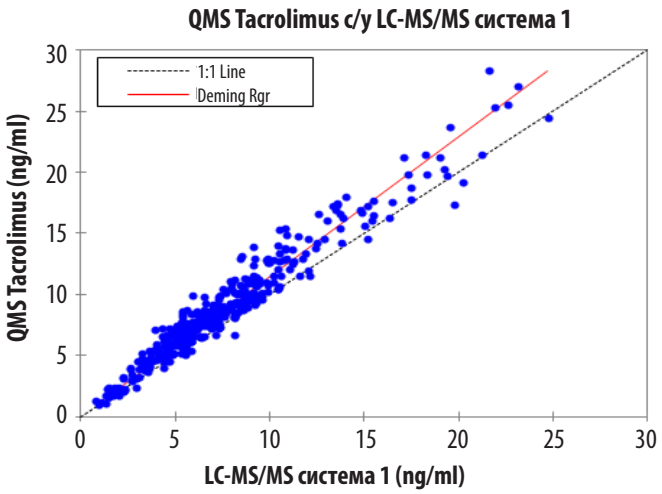
Сравнимост на метода

Проведени са корелационни проучвания за сравняване на имуноанализ QMS Tacrolimus с два LC-MS/MS метода (система 1 и система 2) и имуноанализ за такролимус на Abbott ARCHITECT®. В проучванията са използвани цяла кръв EDTA проби, получениот пациенти с бъбречна, чернодробна и сърдечна трансплантация, приемащи такролимус. Всички изследвани проби са най-ниските възможни от основно възрастни пациенти при време след трансплантация за пробите обикновено > 9 месеца. Изследваните пациенти получават схеми с такролимус самостоятелно или едновременно с други имуносупресивни лекарства, основно микофенолат мофетил (MMF), микофенолова киселина (MPA) или кортикостероиди. Резултатите от регресивния анализ по Deming[16] между различните методи са представени в таблицата по-долу.

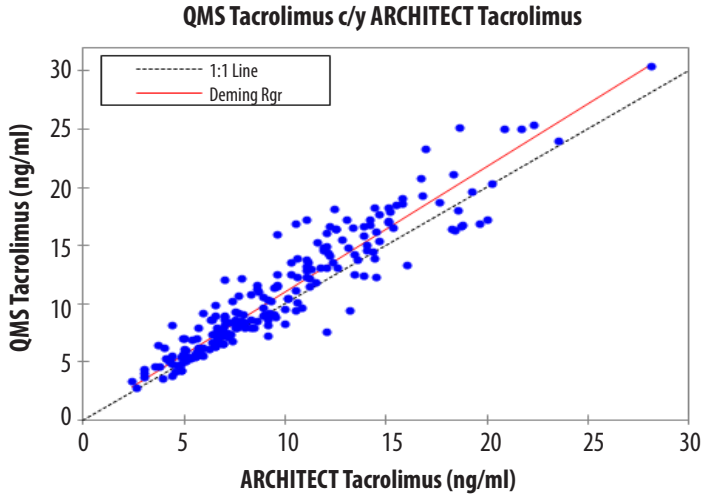
Сравнителен метод	n	Склон (95% CI*)	Интерцепция (95% CI)	Коефициент на корелация (R)
LC-MS/MS система 1	383	1,111 (1,084 до 1,137)	0,53 (0,31 до 0,76)	0,972
LC-MS/MS система 2	232	1,130 (1,092 до 1,167)	0,71 (0,42 до 1,01)	0,967
Анализ на Abbott ARCHITECT Tacrolimus	208	1,126 (1,071 до 1,181)	-0,03 (-0,63 до 0,56)	0,937

*Доверителен интервал (CI)
Диапазон на проби в QMS Tacrolimus: 1,0 до 30,8 ng/ml
Диапазон на проби в LC-MS/MS: 0,8 до 29,5 ng/ml
Диапазон на проби в ARCHITECT Tacrolimus: 2,4 до 28,1 ng/ml

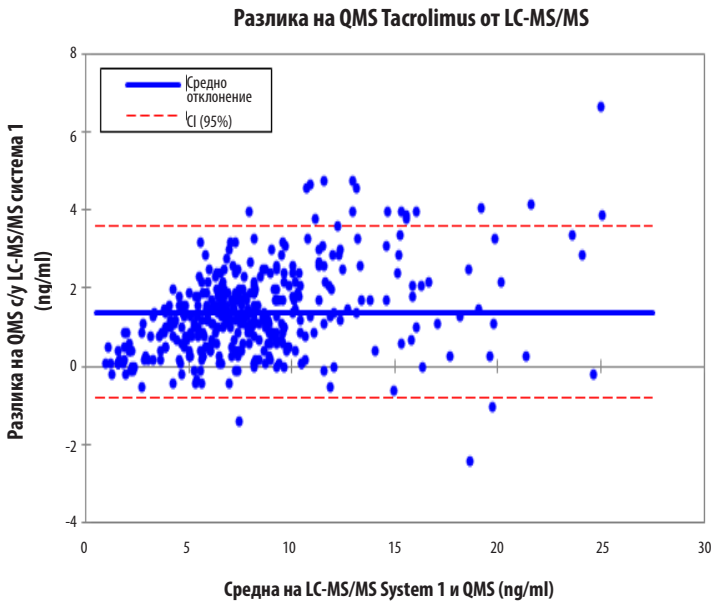
Диаграма на разпръскване за резултатите от QMS Tacrolimus c/y LC-MS/MS система 1 за комбинирани проби с бъбречни, чернодробни и сърдечни трансплантации.



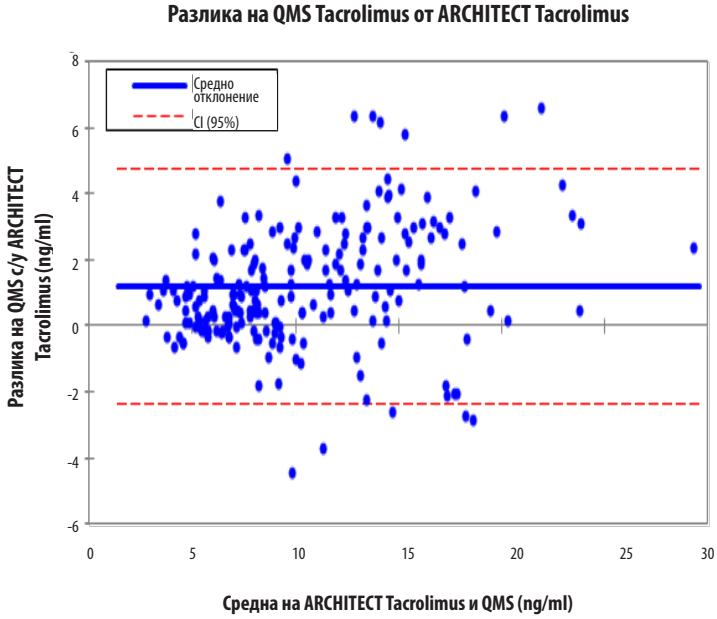
Диаграма на разпръскване за резултатите от QMS Tacrolimus c/y Abbott ARCHITECT Tacrolimus за комбинирани проби с бъбречни и чернодробни трансплантации.



Диаграма за отклонение на Bland and Altman[17] за резултати от QMS Tacrolimus c/y LC-MS/MS система 1 за комбинирани проби от бъбречни, чернодробни и сърдечни трансплантации. Средното отклонение се изчислява като средна разлика между резултатите от имуноанализ QMS Tacrolimus Immunoassay и LC-MS/MS система 1.



Диаграма за отклонение на Bland and Altman[17] за резултати от QMS Tacrolimus c/y Abbott ARCHITECT Tacrolimus за комбинирани проби от бъбречни и чернодробни трансплантации. Средното отклонение се изчислява като средна разлика между резултатите от имуноанализ QMS Tacrolimus Immunoassay и Abbott ARCHITECT Tacrolimus.



Специфичност

Проучвания за специфичност са проведени, използвайки за насоки Протокол EP7-A2 на CLSI.[18] Кръстосаната реактивност е оценена за съществуващите основни метаболити и такролимус. Изследвани са и други медикаменти, прилагани рутинно с такролимус, за да се определи дали тези съединения повлияват количественото определяне на концентрациите на такролимус при използване на анализ QMS Tacrolimus.

Кръстосаната реактивност на метаболитите се изчислява по формулата:

$$\text{Кръстосана реактивност (\%)} = \frac{\text{Измерена концентрация - Очаквана концентрация}}{\text{Концентрация на показващия кръстосана реактивност реагент}} \times 100$$

Кръстосана реактивност с метаболити на такролимус

Кръстосаната реактивност на имуноанализа QMS Tacrolimus към основните метаболити на такролимус е представена на следващата таблица. Изследваните съединения са добавени към проби човешка цяла кръв, съдържащи две концентрации на лекарството такролимус и изследвани в три репликата. Изчислен е процентът на кръстосана реактивност.

Метаболити на такролимус	Метаболитна концентрация (µg/ml)	Очаквана концентрация (ng/ml)	Измерена концентрация (ng/ml)	Възстано-вяване (%)	Кръстосана реактивност (%)
M-I (13-O-деметил)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-деметил)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-деметил)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-хидрокси)	3,5	14,6	18,7	128,1	117,1
	3,3	21,2	27,0	127,4	174,8
	20	5,0	6,1	122,0	5,7
	20	12,0	14,1	117,5	10,5
M-VII (13,15-O-дидеметил)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-дидеметил) + M-VI (13,31-O-дидеметил)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Възстановяване (%) = (Измерена концентрация ÷ Очаквана концентрация) x 100

Наблюдаваната кръстосана реактивност на метаболита на такролимус M-IV е ≤ 174,8%. Метаболити на такролимус M-V и M-VIII не са били оценявани за определяне на възможна кръстосана реактивност.

Проби от пациенти с такролимус съдържат ниски концентрации на метаболити на такролимус в сравнение с основното лекарство, с около 6% M-I, 15% M-II, 6% M-III и почти недоловими M-IV. [9,12,19]

Интерфериращи вещества

Проучванията за интерференция се провеждат по Протокол EP7-A2 на CLSI като указание.[18] Имуноанализът QMS Tacrolimus е изследван с прилагане на прилагани едновременно с такролимус лекарства и често употребявани лекарства, за да се установи дали съществува потенциална интерферентност. Изследваните съединения са добавени към проби от човешка цяла кръв, съдържащи приблизително 5 и 12 ng/ml такролимус и са изследвани с имуноанализ QMS Tacrolimus. Възстановяване на концентрация на такролимус с по-голяма от 10% грешка се счита за имаща интерференция с анализа. Съединенията, изследвани в изброените концентрации в таблицата по-долу, не показват интерференция с анализа. Средният процент на възстановяване на такролимус е в диапазона 91% до 109%.

Съединение	Концентрация (ng/ml)	Съединение	Концентрация (ng/ml)
Ацетаминофен	200 000	Канамицин B сулфат	100 000
Ациклогуанизин / Ацикловир	1 000 000	Кетоконазол	100 000
Алопуринол	50 000	Лабеталол	17 100
Амикацин сулфат	150 000	Лидокаин	100 000
Амфотерицин B	100 000	Литий	35 000
Ампицилин	100 000	Ловастатин	20 000
Апрезолин / Хидралазин	100 000	Метилпреднизолон	100 000
Атенолол	40 000	Метоклопрамид	100 000
Азатиоприн	100 000	Миноксидил	60 000
Азитромицин	5 000	Морфинов сулфат	100 000
Бромокриптин / 2-бромо-α-ергокриптин	8 000	Микофенолова киселина	100 000
Карбамазепин	120 000	N-ацетилпрокаинамид	120 000

Таблицата продължава

Съединение	Концентрация (ng/ml)	Съединение	Концентрация (ng/ml)
Цефазолин	150 000	Надолол	1 200
Цефтриаксон	500 000	Напроксен	100 000
Цефалоспорин C	100 000	Никардипин	500
Хлорпромазин	50 000	Никотин	20 000
Хлорамфеникол	250 000	Нифедипин	100 000
Хлородиазепоксид	20 000	Пеницилин Г	100 000
Хлорохин	1 500	Фенобарбитал	100 000
Циметидин	100 000	Фенобарбитал	150 000
Ципрофлоксацин	7 400	Фенитоин	100 000
Кларитромицин	5 000	Празозин	100 000
Клонидин	100	Преднизолон	100 000
Колхицин	90	Преднизон	100 000
Кортизон	1 200	Примидон	100 000
Циклоспорин / Циклоспорин A	10 000	Пробукол	600 000
Диазепам	20 000	Прокаинамид	100 000
Дигитоксин	100 000	Проксифен	4 000
Дигоксин	10 000	Пропранолол	40 000
Дилтиазем	60 000	Хинидин	100 000
Дизопирамид	100 000	Ранитидин	200 000
Еритромицин	200 000	Рифампин / Рифампицин	100 000
Етосуксимид	300 000	Салицилова киселина	500 000
Еверолимус	100	Сиролимус (рапамицин)	300
Фамотидин	10 000	Спектиномицин	100 000
Флуконазол	100 000	Стрептомицин	100 000
Флуцитозин / 5-флуороцитозин	40 000	Сулфаметоксазол	150 000
Фуроземид	100 000	Теофилин	250 000
Ганцикловир	1 000 000	Тиклопидин	150 000
Гемфиброзил	100 000	Тобрамицин	100 000
Гентамицин	120 000	Триамтерен	100 000
Хидрохлоротиазид	40 000	Триметоприм	40 000
Хидрокортизол	100 000	Валпроева киселина	500 000
Ибупрофен	400 000	Ванкомицин	100 000
Итраконазол	100 000	Верапамил	100 000
Канамицин A сулфат	100 000		

Следните потенциално взаимодействащи ендогенни съединения при изследване с имуноанализа QMS Tacrolimus в посочените концентрации дават 92% до 108% възстановяване.

Потенциално интерфериращо съединение	Концентрация
Албумин	12 g/dl
Билирубин	60 mg/dl
Холестерол	500 mg/dl
Креатинин	5 mg/dl
Триглицериди	15 00 mg/dl
Пикочна киселина	20 mg/dl
IgG гама глобулин	12 g/dl
Ревматоиден фактор	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Хематокрит	12% - 64%

*HAMA = човешки анти-миши антитела

ЛИТЕРАТУРА

1. Kino T, Hatanaka H, Miyata S, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a streptomyces II. Immunosuppressive effect of FK-506 *in vitro*. J Antibiotics 1987; 40:1256-1265.
2. Bierer BE, Jin YJ, Fruman DA, et al. FK506 and rapamycin: molecular probes of T-lymphocyte activation. Transplant Proc 1991;23:2850-2855.
3. Schreiber SL. Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. Science 1991;251:283-287.
4. Thomson AW, Bonham CA, and Zeevi A. Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. Ther Drug Monit 1995;17:584-591.
5. Griffith JP, Kim JL, Kim EE, et al. X-ray structure of calcineurin inhibited by the immunophilin-immunosuppressant FKBP12-FK506 complex. Cell 1995;82:507- 522.
6. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document; therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). Ther Drug Monit 1995;17:606-614.
7. Physicians' Desk Reference, 58th ed. Thomson PDR at Montvale, NJ. 2004; PROGRAF®: 1323-1327.
8. Lhoest GJ, Maton N, Latinne D, et al. 15-desmethyl FK-506 and 15,31-desmethyl FK-506 from human liver microsomes: isolation, identification (by fast atom bombardment mass spectrometry and NMR), and evaluation of in vitro immunosuppressive activity. Clin chem. 1994:40:740-744.
9. Gonschior AK, Christians U, Winkler M, et al. Tacrolimus (FK506) metabolite patterns in blood from liver and kidney transplant patients. Clin Chem. 1996;42:1426-1432.
10. Alak AM. Measurement of tacrolimus (FK506) and its metabolites: a review of assay development and application in therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. Ther Drug Monit. 1997;19:338- 351.
11. Jusko WJ. Analysis of tacrolimus (FK506) in relation to therapeutic drug monitoring. Ther Drug Monit. 1995:17:596-601.
12. Christians U, Pokaiyavanichkul T, Chan L, Tacrolimus, Applied Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Principals of Therapeutic Drug Monitoring. 4th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA 2005: 529-562.
13. Staatz CE, Willis C, Taylor PJ, and Tett SE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients. Clin Pharmacol Ther. 2002;72:660-669.
14. PROGRAF® [package insert]. Deerfield, IL: Astellas Pharma US, Inc.; 2012.
15. Tholen DW, Kallner A, Kennedy JW, et al. NCCLS. Evaluation of Precision Performance of Quantative Measurement Methods; Approved Guideline-Second Edition. NCCLS document EP5-A2 [ISBN 1-56238-542-9]. NCCLS, Wayne, PA, 2004.
16. Deming WE. Statistical adjustment of data. New York: Wiley, 1943. (Dover Publications edition, 1985; Dover Publications, New York)
17. Bland JM, Altman DG. "Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement". Lancet 327 (8476) 1986: 307–310.
18. McEnroe RJ, Burritt MF, Powers DM, et al. Clinical and Laboratory Standards Institute. Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP7-A2 [ISBN 1-56238-584-4]. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2005.
19. Mancinelli LM, Frassetto L, Floren LC, Dressler D, Carrier S, Bekersky I, Benet L, and Christians U. The pharmacokinetics and metabolic disposition of tacrolimus: A comparison across ethnic groups. Clin Pharmacol Ther. 2001; 69:24-31.

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

Производител:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Безплатен номер за САЩ: 800-626-0690

EC REP
Оторизиран представител в ЕС:
B·R·A·H·M·S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Служба за клиенти
Безплатен номер за САЩ: 1-800-232-3342
Други държави: Моля, свържете се с вашия местен представител на Microgenics.

Bio-Rad Lyphocheck® е регистрирана търговска марка на Bio-Rad®.
MORE Diagnostics Controls са собственост на MORE Diagnostics, Inc.
ARCHITECT е регистрирана търговска марка на Abbott Laboratories®.
Всички останали търговски марки са собственост на Thermo Fisher Scientific и неговите дъщерни компании.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Всички права запазени.

За актуализации на листовката влезте в:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-15-BG
2023 12

thermo scientific