

## Rx Only

**REF** 10015556

Pouze k diagnostickému použití *in vitro*

Před použitím si bezpodmínečně pečlivě přečtěte tuto příbalovou informaci ke kvantitativnímu mikrosférickému systému (QMS). Dodržujte přesné pokyny uváděné v této příbalové informaci. V opačném případě nelze zaručit spolehlivost výsledků testu.

### ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ

Imunotest QMS Tacrolimus je určen ke kvantitativnímu stanovení takrolimu v lidské plné krvi pomocí automatických klinických chemických analyzátorů. Získané výsledky slouží jako pomůcka při léčbě pacientů s transplantovanými ledvinami, játry nebo srdcem, léčených takrolimem. Toto diagnostické zařízení *in vitro* je určeno pouze pro použití v klinických laboratořích.

### SOUHRN A VYSVĚTLENÍ TESTU

Takrolimus (FK506, PROGRAF<sup>®</sup>) je makrolidové antibiotikum mykotického původu, *Streptomyces tsukubaensis*, se silným imunosupresivním účinkem, které je vhodné pro pacienty s transplantovanými ledvinami nebo játry.<sup>1</sup> Takrolimus je inhibitor kalcineurinu. Kalcineurin je fosfatáza vyskytující se v přírodě, která aktivuje proliferaci T-lymfocytů.<sup>2-4</sup> V buňkách se takrolimus váže na rodinu proteinů označovaných jako FKBP (vazebné proteiny FK506) a následně vytváří pětičlenný komplex, který obsahuje takrolimus, FKBP, kalcineuriny A a B a kalmodulin.<sup>2-5</sup> Tato pětičlenná formace inhibuje fosfatázni aktivitu kalcineurinu, která je nutná k aktivaci transkripčních faktorů pro přenos do buněčného jádra. Tím se oslabuje genový projev T-lymfocytů, především u cytokinů, jako jsou například IL-2, což vede k imunosupresivnímu účinku u pacientů.<sup>2-5</sup>

Distribuce takrolimu mezi plnou krví a plazmou závisí na několika faktorech, například na hematokritu, koncentraci léčiv a koncentraci plazmatických proteinů. Poměr plné krve ke koncentraci plazmy je v průměru 35 (rozsah 12 až 67).<sup>6-7</sup> Takrolimus je rozsáhle metabolizován systémem cytochromů P-450, především CYP3A.<sup>8-11</sup> Toto léčivo je demetylací a hydroxylací metabolizováno na alespoň 8 metabolitů (M-I – M-VIII).<sup>12</sup> Průměrný poločas takrolimu *in-vivo* je odhadován na 48 hodin.<sup>8-11</sup> Byla zjištěna velká variabilita koncentrací takrolimu v plné krvi mezi jednotlivými pacienty a také velká variabilita mezi různými pacienty.<sup>13</sup> Takrolimus se doporučuje pečlivě a často monitorovat.<sup>14</sup>

### PRINCIPY POSTUPU

Imunotest QMS Tacrolimus je homogenní částicový turbidimetrický imunotest. Je založen na kompetici mezi léčivem ve vzorku a léčivem navázaným na mikročástici na protilátková vazbová místa protilátkového činidla takrolimu. Činidlo s mikročásticemi pokrytými takrolimem v přítomnosti činidla s protilátkami proti takrolimu a v nepřítomnosti kompetitivního léčiva ve vzorku rychle aglutinuje. Rychlost změny absorbance se měří fotometricky při vlnové délce 700 nm. Po přidání vzorku obsahujícího takrolimus je aglutinační reakce částečně inhibována, čímž se snižuje rychlost změny absorbance. Na základě těchto údajů lze sestavit klasickou křivku inhibice aglutinace v závislosti na koncentraci – maximální rychlost aglutinace bude při nejnižší koncentraci takrolimu a nejnižší rychlost aglutinace bude při nejvyšší koncentraci takrolimu.

### ČINIDLA

#### Souprava činidel

QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, se dodává jako souprava tří tekutých činidel připravených k použití. Souprava obsahuje:

**REAGENT 1** 1 × 18 ml

**REAGENT 2** 1 × 12 ml

**EXT** Extrakční činidlo 1 × 50 ml (vyžadováno pracovní řešení, viz str. 2, Příprava extrakčního roztoku)

#### Reaktivní složky

INGRED	Složka	Koncentrace
<b>REAGENT 1</b>	Monoklonální protilátka proti takrolimu (králíčí) Azid sodný	< 1,0 % 0,09 %
<b>REAGENT 2</b>	Mikročástice potažené takrolimem Azid sodný	< 0,3 % 0,09 %
<b>EXT</b>	Azid sodný	0,09 %

#### MANIPULACE S ČINIDLEM A JEHO SKLADOVÁNÍ

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** a **EXT** (extrakční činidlo) připraveno k použití
- Před použitím několikrát převratte. Dávejte pozor, aby se nevytvořily vzduchové bubliny.
- Pokud jsou v kazetě s činidlem vzduchové bubliny, odstraňte je. Činidlo případně můžete ponechat volně při vhodné skladovací teplotě – bubliny vymizí samovolně. Bubliny neodstraňujte přenášecí pipetou, abyste minimalizovali ztrátu objemu.
- Když se vyprázdní kazeta s činidlem **REAGENT 1** nebo **REAGENT 2**, obě kazety vyměňte a ověřte kalibraci proti alespoň jednomu vzorku z každé úrovně kontrol v souladu se zavedenými požadavky kontroly kvality platnými ve vaší laboratoři. Pokud výsledky kontroly spadají mimo přijatelná rozmezí, může být nutné provést recalibraci.
- Informace specifické pro systém naleznete v listu systémových parametrů testu příslušného analyzátoru.

- Pokud dojde k neúmyslnému rozliti, vyčistěte je a materiál zlikvidujte v souladu se standardními postupy vaší laboratoře a místními, resp. státními předpisy.
- Pokud je balení dodáno poškozené, obraťte se na zástupce technické podpory (viz informace na zadní straně této příbalové informace).



**POZOR:** Bubliny v činidle mohou bránit správné detekci úrovně činidla v kazetě; taková situace může vést k nedostatečné aspiraci činidla a může ovlivnit výsledky.

Neotevřená činidla jsou stabilní až do data spotřeby, pokud jsou skladována při teplotě 2 až 8 °C.

**Činidla nezmrazujte ani nevystavujte teplotám nad 32 °C.**



#### UPOZORNĚNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

- Pouze k diagnostickému použití *in vitro*. Při manipulaci s laboratorními činidly dodržujte všechna obvyklá bezpečnostní opatření.
- Nemíchejte materiály ze souprav s různými čísly šarží.
- Nepoužívejte soupravy činidel po vypršení data spotřeby.

**NEBEZPEČÍ:** Imunotest QMS Tacrolimus obsahuje ≤ 3,0 % hm. lidského sérového albuminu (HSA) a ≤ 1,0 % hm. protilátky specifické pro dané léčivo (králíčí).

Extrakční činidlo QMS Tacrolimus obsahuje ≤ 9,0 % hm. síranu zinečnatého (ZnSO<sub>4</sub>).

H317 – Může vyvolat alergickou kožní reakci.

H334 – Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže.

H318 – Způsobuje vážné poškození očí.

H411 – Toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

Zamezte vdechování mlhy nebo par. Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. Používejte ochranné rukavice / ochranné brýle / obličejový štít. V případě nedostatečného větrání používejte vybavení pro ochranu dýchacích cest. Při styku s kůží: Omyjte velkým množstvím mýdla a vody. **PŘI VDECHNUTÍ:** Při obtížném dýchání přeneste postiženého na čerstvý vzduch a ponechte jej v klidu v poloze usnadňující dýchání. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Při dýchacích potížích: Zavolejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte. Obsah/obal odstraňte předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.

Zabraňte uvolnění do životního prostředí. Používejte ochranné rukavice / ochranné brýle / obličejový štít. **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyměňte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování. Zavolejte ihned TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. Uniklý produkt seberte. Obsah/obal odstraňte předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.



**POZOR:** Materiály lidského původu byly testovány metodou schválenou institutem FDA na výskyt virů HIV 1 a 2, hepatitidy typu B a hepatitidy typu C. Výsledky těchto testů byly negativní. Žádná metoda testování však nemůže vyvrátit potenciální riziko infekce s absolutní jistotou, proto je třeba s materiálem zacházet stejně opatrně jako se vzorkem pacienta. Došlo-li k expozici, mělo by se postupovat podle směrnic zodpovědných zdravotnických orgánů.

Činidla použitá v testovacích složkách obsahují jen 0,09 % a méně azidu sodného. Dávejte pozor, aby nedošlo ke kontaktu s kůží nebo sliznicemi. Další bezpečnostní opatření, pokyny k manipulaci a opatření v případě náhodné expozice naleznete v bezpečnostním listu.

#### SBĚR A MANIPULACE SE VZORKY

- Používejte pouze vzorky plné krve ve zkumavkách EDTA. U všech odběrových zkumavek postupujte dle pokynů ke zpracování udávaných výrobcem. Je třeba dbát na zachování integrity vzorku od okamžiku odběru až do provedení testu. Vzorky by měly být označeny časem odběru krve a časem posledního podání léku.
- Vzorky by měly být uzavřeny a využity k testování do 7 dnů, jsou-li skladovány při teplotě 2 až 8 °C, resp. do 6 měsíců, jsou-li skladovány při teplotě ≤ –20 °C.<sup>6,10-11</sup> Vyhněte se opakovanému zmrazování a rozmrazování. Nevyvolávejte pění vzorků.

## POSTUP

### Dodávané materiály

- Souprava činidel QMS Tacrolimus, [REF] 10015556

### Potřebné materiály, které nejsou součástí balení

- Kalibrátory QMS Tacrolimus, [REF] 10015573, CAL A: 1 × 4 ml, CAL B–F: 1 × 2 ml každý
- Produkty pro kontrolu kvality
  - Doporučené materiály:
    - Kontroly MORE Diagnostics Rap/Tac/CSA, NÍZKÁ, 280-Q: 4 × 4 ml každá
    - STŘEDNÍ, 280-1: 4 × 4 ml každá
    - VYSOKÁ, 280-2: 4 × 4 ml každá
  - Další komerčně dostupné produkty pro kontrolu kvality získáte u technické podpory Thermo Fisher Scientific
- Metanol, stupeň HPLC (≥ 99,8% čistota)
- Mikrocentrifugační zkumavky s kulatým dnem
- Automatický klinický chemický analyzátor

### Příprava vzorků

Poznámka: Postupujte prosím podle pokynů a doporučení dodavatelů v příbalových informacích, jsou-li k dispozici.

Kalibrátory a vzorky pacienta před extrakcí nechte temperovat na pokojovou teplotu. Kalibrátory by měly být míchány po dobu alespoň 15 až 20 minut a vzorky pacienta by měly být před použitím důkladně promíchány za pokojové teploty. Kalibrátory a vzorky pacienta je nutné pečlivě promíchat šetrným převrácením (preferováno je použití třepačky). Dávejte pozor, aby nedošlo k tvorbě bublin.

### Příprava extrakčního roztoku

1. Do čisté, suché a vyzduchotěné nádoby přidejte přesně 10 ml extrakčního činidla temperovaného na pokojovou teplotu.
2. Do nádoby přidejte přesně 40 ml metanolu stupně HPLC (≥ 99,8% čistota) a šetrně obsah zamíchejte. Tuto nádobku označte jako „Pracovní extrakční roztok takrolimu“. Na štítek zaznamenejte aktuální datum a datum expirace (2 týdny od data přípravy). Skladujte při pokojové teplotě.

### Postup extrakce vzorků, kalibrátorů a kontrol

OPTIMÁLNÍCH VÝSLEDKŮ DOSÁHNETE, BUDETE-LI POSTUPOVAT PŘESNĚ PODLE NÁSLEDUJÍCÍCH KROKŮ. EXTRAHOVANÉ LÁTKY JE NUTNĚ ANALYZOVAT IHNEDE PO EXTRAKCI.

1. Připravte a označte mikrocentrifugační zkumavky s kulatými dny, které použijete k extrakci vzorků, kalibrátorů a kontrol. Pro každý vzorek připravte jednu mikrocentrifugační zkumavku.
2. Do označené mikrocentrifugační zkumavky odměřte pipetou přesně 200 µl materiálu vzorku, kalibrátoru nebo kontroly. Nasajte vzorek pipetou a šetrně otřete špičku pipety o okraj zkumavky za účelem odstranění nadbytečného vzorku. Nasátý vzorek vypusťte na vnitřní stěnu mikrocentrifugační zkumavky.  
**Poznámka:** Ujistěte se, že ve špičce pipety nejsou žádné vzduchové bubliny. Vzduch ve špičce může vést k nepřesnosti.
3. Do stejné mikrocentrifugační zkumavky odměřte pipetou přesně 200 µl extrakčního roztoku. Při přípravě více vzorků doporučujeme extrakční roztok dávkovat opakovací pipetou. Před vypuštěním extrakčního roztoku odstraňte ze špičky pipety vzduchové bubliny.
4. Mikrocentrifugační zkumavku uzavřete a ihned promíchávejte při nejvyšší rychlosti po dobu 15 až 30 sekund. Zkontrolujte směs ve zkumavkách, zda jsou homogenní. Naleznete-li nepromíchaný vzorek, uvolněte nepromíchanou část a znovu zkumavku promíchejte.
5. Tuto směs nechte při pokojové teplotě odstát po dobu 5 až 7 minut.
6. Vložte tuto mikrocentrifugační zkumavku do centrifugy a centrifugujte ji po dobu 5 minut při počtu otáček za minutu odpovídajícímu 15 000 – 16 000 × g.
7. Odlijte supernatant do nádoby na vzorky (zabraňte tvorbě bublin) a ihned spusťte měření, aby se minimalizovalo vypařování vzorku. Neuvolňujte poslední kapku poklepáním na nádobku, abyste nenarušili sraženinu.
8. Po analýze extrakty zlikvidujte. K opakovanému testování vzorků je nutné provést novou extrakci.

**Poznámka:** Další tipy a doporučení týkající se postupu extrakce vzorků pro imunitest QMS Tacrolimus jsou k dispozici u technické podpory Thermo Fisher Scientific.

### Postup testu

Detailní popis postupu při analýze a kalibraci testu naleznete v návodu k použití příslušného přístroje.

### Postup ředění vzorku

K manuálnímu ředění vzorků mimo lineární kalibrace testu použijte roztok QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml).

#### Protokol manuálního ředění

Manuální ředění lze před extrakcí provádět u vzorků pacienta s koncentracemi takrolimu vyššími než 30 ng/ml naředěním vzorku roztokem QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml) v poměru 1 : 1. Ředění je nutné provést tak, aby výsledky testu po naředění byly vyšší než úroveň citlivosti testu, tzn. 1 ng/ml. Konečnou koncentraci vzorku získáte vynásobením nahlášené koncentrace faktorem manuálního ředění.

Konečná koncentrace roztoku = Hlášená koncentrace × Faktor manuálního ředění

Faktor manuálního ředění = (Objem vzorku + Objem roztoku CAL A) / Objem vzorku

### KALIBRACE

Imunitest QMS Tacrolimus je nutné nakalibrovat pomocí plného (6bodového) postupu kalibrace. Plnou kalibraci provedete otestováním kalibrátorů QMS Tacrolimus A, B, C, D, E a F. S imunitestem QMS Tacrolimus lze používat pouze kalibrátory QMS Tacrolimus. Pokud při kalibraci imunitestu QMS Tacrolimus nepoužijete soupravu kalibrátorů QMS Tacrolimus, [REF] 10015573, nelze zajistit přesné kvantitativní stanovení hladiny takrolimu.

Kalibraci je třeba provést s každým novým číslem šarže. Kalibrační křivku ověřte proti alespoň jednomu vzorku z každé úrovně kontrol v souladu se zavedenými požadavky kontroly kvality platnými ve vaší laboratoři. Pokud výsledky kontroly spadají mimo přijatelná rozmezí, je nutné provést nápravná opatření.

### Frekvence kalibrace

Překalibrování je doporučeno

- po změně šarže kalibrátoru nebo soupravy činidel,
- po provedení měsíční údržby přístrojů,
- podle požadavků platných postupů kontroly kvality.

### KONTROLA KVALITY

Všechny požadavky na kontrolu kvality je nutné provést v souladu s místními, státními nebo vládními předpisy nebo požadavky na akreditaci.

Další požadavky na kontrolu kvality a potenciální nápravná opatření naleznete ve standardních provozních postupech vaší laboratoře nebo plánu zajištění kvality.

Doporučované požadavky kontroly imunitestu QMS Tacrolimus:

- Pro každou úroveň kontrol by měl být proveden minimálně jeden test vzorku pokaždé, když jsou extrahovány a testovány vzorky pacientů.
- Pokud vyžadujete častější monitorování kontrol, dodržujte zavedené postupy kontroly kvality platné ve vaší laboratoři.
- Všechny požadavky na kontrolu kvality je nutné provést v souladu s místními, státními nebo vládními předpisy nebo požadavky.
- Pokud výsledky kontroly kvality nespádají do přijatelného rozmezí definovaného vaší laboratoří, je nutné hodnoty pacienta používat pouze s obezřetností. Tyto hodnoty by neměly být hlášeny. Měla by být zajištěna nápravná opatření.

### VÝSLEDKY

Výsledky imunitestu QMS Tacrolimus jsou uváděny v jednotkách ng/ml.

Hlášení výsledků: Laboratoře by měly hlásit, že výsledky byly získány metodou QMS Tacrolimus.

### Chybové kódy výsledků:

Některé výsledky mohou obsahovat chybové kódy výsledků. Popisy chybových kódů naleznete v provozní příručce příslušného nástroje.

### OMEZENÍ POSTUPU

- Hodnoty koncentrace takrolimu v daném vzorku, které byly stanoveny imunitestem odlišných dodavatelů, se mohou lišit kvůli rozdílům v testovacích metodách a specifických vlastnostech činidel. Je doporučeno konzistentní monitorování jedním druhem testu.
- **Imunitesty jsou nespecifické a zkřížené reagují s metabolity. Kvůli tomu mohou imunitesty nadhodnotit koncentraci takrolimu (viz část Srovnání metod). Při poruše vylučování takrolimu se mohou metabolity hromadit ve větší míře, což vede k většímu nadhodnocení. V takových případech je vhodné zvážit použití specifického testu (např. chromatografie).**
- K interferenci heterofilních protilátek dochází v populaci pouze vzácně. Tyto protilátky mohou vést k chybným výsledkům (včetně chybně nízkých výsledků způsobených aglutinací mikročasticového činidla).
- Výsledky testu je vždy nutné hodnotit v kontextu pacientovy anamnézy, klinických vyšetření a jiných nálezů. Jsou-li výsledky v rozporu s klinickými známkami, je nutné je potvrdit dodatečnými testy.
- Účinky souběžně podávaných léků a léků, které mohou ovlivňovat koncentraci takrolimu, naleznete v příbalové informaci PROGRAF.<sup>14</sup>

## OČEKÁVANÉ HODNOTY

Tento test neurčuje optimální terapeutické rozmezí takrolimu v plné krvi. Terapeutická rozmezí takrolimu se mohou lišit v závislosti na klinických faktorech a na použité metodice.

Vzhledem k variabilitě klinických stavů pacientů by měli požadované terapeutické rozmezí určovat lékaři na základě vlastních zkušeností a klinických potřeb jednotlivých pacientů. Změny léčebného režimu by se neměly odvíjet pouze od hodnot takrolimu. K různým požadavkům optimálních hladin takrolimu v krvi přispívají individuální rozdíly v citlivosti na imunosupresivní a nefrotoxické účinky takrolimu, konkomitantní podávání jiných imunosupresiv, typ transplantátu, doba, která uplynula od transplantace a mnoho dalších faktorů.

Optimální rozmezí se mohou lišit v závislosti na použitém testu, takže je nutné je stanovit zvlášť pro každý komerční test. Hodnoty získané použitím různých testů nelze kvůli rozdílům v metodice a zkřížené reaktivitě volně zaměňovat. Obdobně nelze používat korekční faktory. Doporučujeme u každého pacienta konzistentně používat jeden test.

## SPECIFICKÉ FUNKČNÍ CHARAKTERISTIKY

V následujícím textu jsou uvedeny reprezentativní funkční výsledky získané na komerčně dostupném automatickém klinickém chemickém analyzátoru používajícím turbidimetrickou kvantitativní analýzu. Pokud není uvedeno jinak, proběhly všechny testy v souladu s postupem uvedeným v tomto textu pomocí analyzátoru Beckman AU680. Výsledky získané v jiných laboratořích se mohou lišit. Další výkonnostní údaje týkající se analyzátoru naleznete v jeho protokolu o používání. Kromě toho je možné požádat o asistenci na telefonním čísle technické podpory Thermo Fisher Scientific.

### Rozsah hlášení

Rozsah hlášení imunitestů QMS Tacrolimus je 1 ng/ml (minimální hodnota, kterou lze nahlásit na základě funkční citlivosti) až 30 ng/ml takrolimu.

### Funkční citlivost (limit kvantifikace)

Funkční citlivost představuje nejnižší měřitelnou koncentraci takrolimu při srovnávání testů s přesností 20 % CV. Studie byla provedena s použitím vzorků plné krve a s postupným přidáváním takrolimu v rozmezí od 0,5 do 5,0 ng/ml na měření za test, dvakrát denně, po dobu 30 dnů s celkovým počtem 60 datových bodů. V 95 % intervalu spolehlivosti byl limit kvantifikace (LoQ) definován jako 0,9 ng/mL, což je ve shodě se spodní hranicí testů v hodnotě 1,0 ng/mL. Pozorované procentuální recovery při 0,9 ng/mL je 102,0 %.

### Linearita ředění

Byla provedena studie linearity naředěním vzorku s vysokou koncentrací takrolimu pomocí kalibrátoru QMS Tacrolimus na koncentrace rovnoměrně distribuované v celém rozsahu testu. Procentuální recovery bylo stanoveno rozdělením měřených koncentrací takrolimu očekávanou koncentrací. Očekávané koncentrace byly stanoveny vynásobením testů vysokých koncentrací faktorem ředění.

% vysokého vzorku	Očekávaná koncentrace (ng/ml)	Naměřená koncentrace (ng/ml)	Recovery (%)
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 %
2,8 %	0,8	0,8	99,6 %
0,0 %	0,0	0,0	n/a

Očekávaná koncentrace = % vysokého vzorku × Vysoká měřená koncentrace

Recovery (%) = (Měřená koncentrace / Očekávaná koncentrace) × 100

## Recovery

Do vzorků negativní plné krve byla postupně přidávána stanovená množství takrolimu v koncentracích v celém rozsahu testu. Koncentrace takrolimu v těchto vzorcích byly ověřeny metodou LC-MS/MS a otestovány imunitestem QMS Tacrolimus. Výsledky naleznete níže.

Číslo vzorku	Počet	Očekávaná koncentrace (ng/ml)	Naměřená koncentrace (ng/ml)	Recovery (%)
Vzorek 1	21	2,7	2,7	101,8
Vzorek 2	21	9,8	10,8	109,4
Vzorek 3	21	18,0	17,7	98,2
Vzorek 4	21	19,8	21,3	107,5
Vzorek 5	21	27,0	27,1	100,4

Recovery (%) = (Měřená koncentrace / Očekávaná koncentrace) × 100

## Přesnost

Přesnost byla hodnocena pomocí vzorků plné krve pacientů a vzorků s postupně měněnou koncentrací. Studie proběhla na základě protokolu CLSI EP5-A2.<sup>15</sup> Každý vzorek byl analyzován ve dvou provedeních na test, dvakrát denně, po dobu 20 dní. Počítala se průměrná hodnota, mezitestové a celkové SD a CV (%). Reprezentativní výsledky naleznete v následující tabulce.

Vzorky	Počet	Průměr (ng/ml)	Mezi testy		Celkové	
			SD	% CV	SD	% CV
Obohacený vzorek A	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Obohacený vzorek B	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Obohacený vzorek C	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Vzorek pacienta A	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Vzorek pacienta B	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Vzorek pacienta C	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

## Srovnání metod

Byly provedeny dvě srovnávací studie, které porovnávaly imunitest QMS Tacrolimus se dvěma metodami LC-MS/MS (System 1 a System 2) a s testem Abbott ARCHITECT® Tacrolimus. Tyto studie zkoumaly vzorky EDTA lidské plné krve získané od pacientů s transplantovanými ledvinami, játry nebo srdcem, kteří užívají takrolimus. Všechny testované vzorky byly odebrány převážně dospělým pacientům. Všeobecně šlo o pacienty, u nichž doba po transplantaci činila při odebrání vzorků více než 9 měsíců. Testovaní pacienti podstoupili léčebný režim pouze samotným takrolimem nebo takrolimem podávaným společně s dalšími imunosupresivními léčivými, zejména mykofenolát mofetilem (MMF), kyselinou mykofenolovou (MPA) nebo kortikosteroidy. Následující tabulka ukazuje výsledky analýzy jednotlivých metod formou Demingovy regrese<sup>16</sup>.

Srovnávací metoda	Počet	Sklon (95% CI)*	Průsečík (95% CI)	Koeficient korelace (R)
LC-MS/MS System 1	383	1,111 (1,084 až 1,137)	0,53 (0,31 až 0,76)	0,972
LC-MS/MS System 2	232	1,130 (1,092 až 1,167)	0,71 (0,42 až 1,01)	0,967
Test Abbott ARCHITECT Tacrolimus	208	1,126 (1,071 až 1,181)	-0,03 (-0,63 až 0,56)	0,937

\*Interval spolehlivosti (CI)

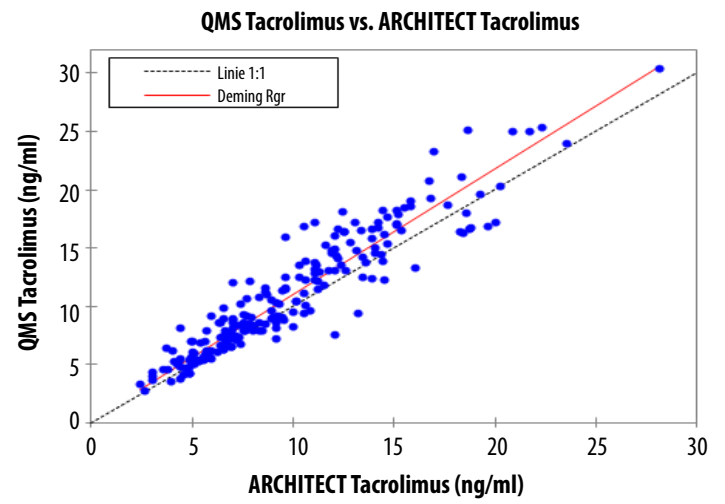
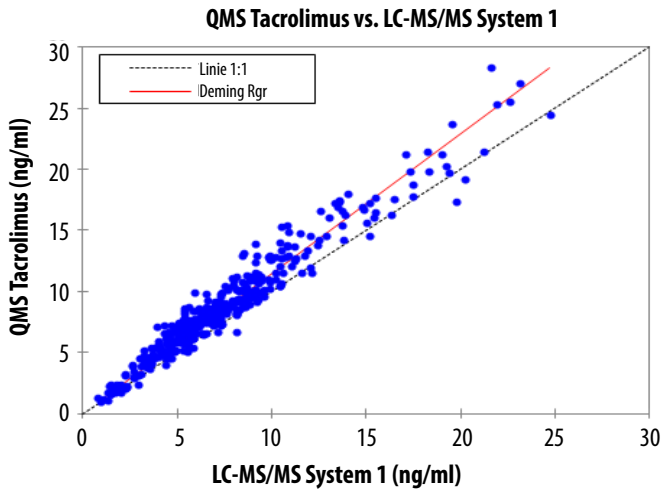
Rozmezí vzorků QMS Tacrolimus: 1,0 až 30,8 ng/ml

Rozmezí vzorků LC-MS/MS: 0,8 až 29,5 ng/ml

Rozmezí vzorků ARCHITECT Tacrolimus: 2,4 až 28,1 ng/ml

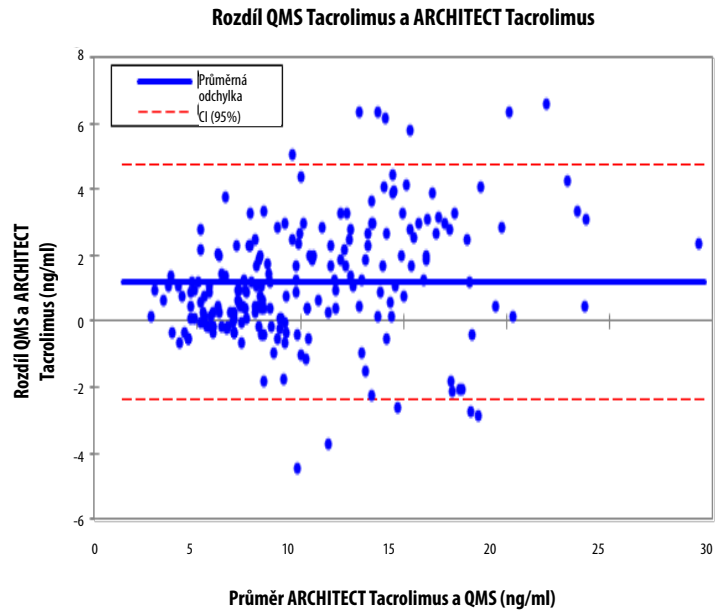
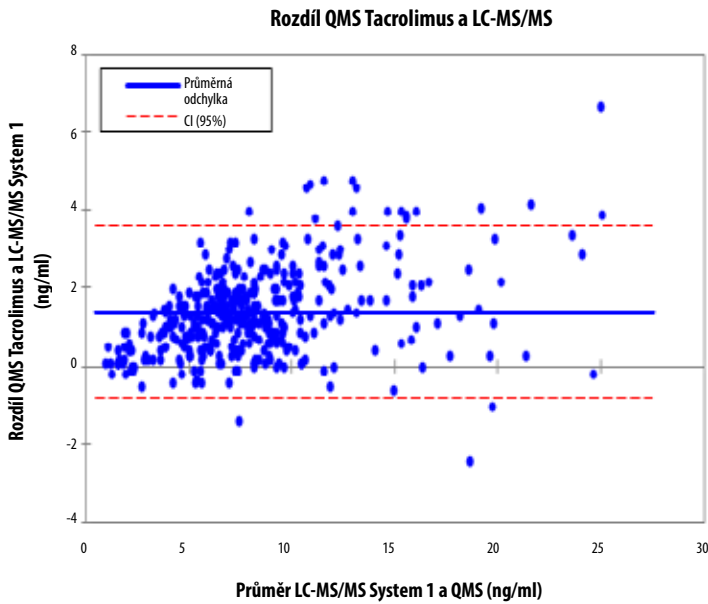
Rozptylový graf výsledků QMS Tacrolimus vs. LC-MS/MS System 1 kombinovaných vzorků u transplantovaných ledvin, jater a srdcí

Rozptylový graf výsledků QMS Tacrolimus vs. Abbott ARCHITECT Tacrolimus kombinovaných vzorků u transplantovaných ledvin, jater a srdcí



Bland-Altmanův rozdílový graf<sup>77</sup> výsledků QMS Tacrolimus vs. LC-MS/MS System 1 kombinovaných vzorků u transplantovaných ledvin, jater a srdcí. Průměrná odchylka byla vypočítána jako průměrný rozdíl mezi výsledky imunotestu QMS Tacrolimus a výsledky metody LC-MS/MS System 1.

Bland-Altmanův rozdílový graf<sup>77</sup> výsledků testů QMS Tacrolimus vs. Abbot ARCHITECT Tacrolimus kombinovaných vzorků u transplantovaných ledvin a jater. Průměrná odchylka byla vypočítána jako průměrný rozdíl mezi výsledky imunotestu QMS Tacrolimus a výsledky testu ARCHITECT Tacrolimus.



## Specifická

Studie specifickosti proběhly na základě protokolu CLSI EP7-A2.<sup>18</sup> Byla testována zkřížená reaktivita dostupných hlavních metabolitů takrolimu. Testováním prošla také jiná léčiva rutině podávaná s takrolimem. Cílem postupu bylo pomocí imunotestu QMSTakrolimus zjistit, jestli tyto látky ovlivňují kvantifikaci takrolimu.

Zkřížená reaktivita metabolitů byla spočítána následujícím vzorcem:

$$\text{Zkřížená reaktivita (\%)} = \frac{\text{Měřená koncentrace} - \text{Očekávaná koncentrace}}{\text{Koncentrace zkřížených reagujících látek}} \times 100$$

## Zkřížená reaktivita s metabolity takrolimu

Zkřížená reaktivita imunotestu QMS Tacrolimus s hlavními metabolity takrolimu je uvedena v následující tabulce. Testované látky byly přidány do vzorků lidské plně krve obsahujících dvě koncentrace léčiva takrolimus. Následně byl proveden test ve třech provedeních. Byla vypočtena procentuální zkřížená reaktivita.

Metabolity takrolimu	Koncentrace metabolitu (ng/ml)	Očekávaná koncentrace (ng/ml)	Naměřená koncentrace (ng/ml)	Recovery (%)	Zkřížená reaktivita (%)
M-I (13-0-demethyl)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-0-demethyl)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-0-demethyl)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-hydroxy)	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 (13,15-0-didemethyl)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-0-didemethyl) + M-VI (13,31-0-didemethyl)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Recovery (%) = (Měřená koncentrace / Očekávaná koncentrace) × 100

Pozorovaná zkřížená reaktivita metabolitu takrolimu M-IV byla ≤ 174,8 %. Metabolity takrolimu M-V a M-VIII nebyly posouzeny za účelem zjištění případné křížové reaktivity.

Vzorky takrolimu pocházející od pacientů obsahují nízké koncentrace metabolitů takrolimu ve srovnání s původním léčivem. Jde o zhruba 6 % M-I, 15 % M-II, 6 % M-III a téměř nedetekovatelné množství M-IV.<sup>9,12,19</sup>

## Interferující látky

Na základě protokolu CLSI EP7-A2 proběhly interferenční studie.<sup>18</sup> Imunotest QMS Tacrolimus byl testován spolu s léčivými souběžně podávanými s takrolimem a běžnými léky. Cílem bylo zjištění potenciálních interferencí. Testované látky byly přidány do vzorků lidské plně krve obsahujících léčivo takrolimus v přibližné koncentraci 5 a 12 ng/ml. Následně byla provedena analýza pomocí imunotestu QMS Tacrolimus. Recovery koncentrace takrolimu s větší než 10% chybou byla považována jako interference s testem. Látky testované v koncentracích uvedených v následující tabulce nevykazují žádnou interferenci s testem. Průměrná procentuální recovery takrolimu se pohybovala v rozmezí od 91 % do 109 %.

Látka	Koncentrace (ng/ml)	Látka	Koncentrace (ng/ml)
Acetaminofen	200 000	Kanamycin B sulfát	100 000
Acykloguanosin / Acyklovir	1 000 000	Ketokonazol	100 000
Allopurinol	50 000	Labetalol	17 100
Amikacin sulfát	150 000	Lidokain	100 000
Amfotericin B	100 000	Lithium	35 000
Ampicilin	100 000	Lovastatin	20 000
Apresolin / Hydralazin	100 000	Metylprednisolon	100 000
Atenolol	40 000	Metoklopramid	100 000
Azathioprin	100 000	Minoxidil	60 000
Azithromycin	5 000	Síran morfinu	100 000
Bromokriptin / 2-Bromo- $\alpha$ -ergokryptin	8 000	Mykofenolát	100 000
Karbamazepin	120 000	N-Acetylprokainamid	120 000

## Pokračování tabulky

Látka	Koncentrace (ng/ml)	Látka	Koncentrace (ng/ml)
Cefazolin	150 000	Nadolol	1 200
Ceftriaxon	500 000	Naproxen	100 000
Cefalosporin C	100 000	Nicardipin	500
Chlorpromazin	50 000	Nikotin	20 000
Chloramfenikol	250 000	Nifedipin	100 000
Chlordiazepoxid	20 000	Penicilin G	100 000
Chloroquin	1 500	Pentobarbital	100 000
Cimetidin	100 000	Fenobarbital	150 000
Ciprofloxacín	7 400	Fenytoin	100 000
Klarithromycin	5 000	Prazosin	100 000
Klonidin	100	Prednizolon	100 000
Kolchicin	90	Prednizon	100 000
Kortizon	1 200	Primidon	100 000
Cyklosporin / Cyklosporin A	10 000	Probucol	600 000
Diazepam	20 000	Prokainamid	100 000
Digitoxin	100 000	Propoxyfen	4 000
Digoxin	10 000	Propranolol	40 000
Diltiazem	60 000	Quinidin	100 000
Disopyramid	100 000	Ranitidin	200 000
Erytromycin	200 000	Rifampin / Rifampicin	100 000
Ethosuximid	300 000	Salicylát	500 000
Everolimus	100	Sirolimus (Rapamycin)	300
Famotidin	10 000	Spektinomycin	100 000
Flukonazol	100 000	Streptomycin	100 000
Flucytosin / 5-Fluorocytosin	40 000	Sulfamethoxazol	150 000
Furosemid	100 000	Theofylin	250 000
Ganciklovir	1 000 000	Ticlopidin	150 000
Gemfibrozil	100 000	Tobramycin	100 000
Gentamicin	120 000	Triamteren	100 000
Hydrochlorothiazid	40 000	Trimethoprim	40 000
Hydrokortisol	100 000	Valproát	500 000
Ibuprofen	400 000	Vankomycin	100 000
Itrakonazol	100 000	Verapamil	100 000
Kanamycin A sulfát	100 000		

Následující potenciálně interferující endogenní látky vykazovaly při testování imunotestem QMS Tacrolimus v níže uvedených koncentracích 92% až 108% recovery.

Potenciálně interferující látka	Koncentrace
Albumin	12 g/dl
Bilirubin	60 mg/dl
Cholesterol	500 mg/dl
Kreatinin	5 mg/dl
Triglycerid	1 500 mg/dl
Kyselina močová	20 mg/dl
IgG Gamaglobulin	12 g/dl
Revmatoidní faktor	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hematokrit	12 % - 64 %

\*HAMA = lidské protilátky proti myším antigenům

## REFERENCE

1. Kino T, Hatanaka H, Miyata S, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a streptomycetes 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 Quantitative 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.

## Rejstřík:

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



**Výrobce:**  
Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA  
USA bezplatná linka: 800-626-0690



**Autorizovaný zástupce v EU:**  
B-R-A-H-M-S GmbH  
Neuendorferstrasse 25  
16761 Hennigsdorf, Germany

## Zákaznická služba

USA bezplatná linka: 1-800-232-3342  
Ostatní země: Obrátte se prosím na místního zástupce společnosti Microgenics.

Bio-Rad Lyphocheck® je registrovaná ochranná známka společnosti Bio-Rad®.  
MORE Diagnostics Controls jsou vlastnictvím společnosti MORE Diagnostics, Inc.  
ARCHITECT je registrovaná ochranná známka společnosti Abbott Laboratories®.  
Všechny ostatní ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jejich poboček.  
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena.



Aktualizace příbalových letáků naleznete na internetové adrese:  
[www.thermofisher.com/diagnostics](http://www.thermofisher.com/diagnostics)

10015557-12-CS  
2021 01

**thermo**  
scientific