

Rx Only

REF 10015556

Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse

Indlægssedlen til dette QMS (kvantitativt mikrosfæresystem) skal læses omhyggeligt før brug. Instruktionerne i indlægssedlen skal ligeledes følges. Pålideligheden af analyseresultaterne kan ikke garanteres, hvis der er afvigelser fra instruktionerne i denne indlægsseddel.

TILSIGTET ANVENDELSE

QMS Tacrolimus-immunanalyse er beregnet til kvantitativ bestemmelse af tacrolimus i humant fuldblod i automatiske kliniske kemianalysatorer. De resultater, der opnås, bruges som en hjælp til administrationen af nyre-, lever- og hjertetransplanterede patienter, der modtager tacrolimus-behandling. Denne enhed til *in vitro*-diagnostisk anvendelse er kun beregnet til klinisk laboratoriebrug.

OVERSIGT OVER OG FORKLARING PÅ TESTEN

Tacrolimus (FK506, PROGRAF[®]) er et makrolid antibiotikum af fungal oprindelse, *Streptomyces tsukubaensis*, med en kraftig immunosuppressiv effekt som ordineret til patienter, der har fået foretaget nyre- og levertransplantation.¹ Tacrolimus er en calcineurinhæmmer, der er naturlig fosfatase og aktiverer T-celleproliferation.^{2,4} Ved cellebegivenheder binder tacrolimus en gruppe af bindende proteiner kaldet FKBP'er (FK506-bindende proteiner) og danner derefter et pentamerisk kompleks inklusive tacrolimus, FKBP, calcineurin A og B samt calmodulin.^{2,5} Pentamerdannelsen resulterer i hæmning af fosfataseaktiviteten for calcineurin, der er påkrævet til aktivering af transkriptionsfaktorer til transport ind i cellekernen. Dermed hæmmes genespressionen af T-lymfocytter, særligt for cytokiner som f.eks. IL-2, og resulterer i en immunosuppressiv effekt hos patienterne.²⁻⁵

Fordelelingen af tacrolimus mellem fuldblood og plasma afhænger af flere faktorer, som f.eks. hæmatokrit, lægemiddelkoncentration, og plasma-proteinkoncentration. Andelen af fuldblood i plasmakoncentrationen er i gennemsnit 35 (fra 12 til 67).^{6,7} Tacrolimus nedbrydes i omfattende grad af cytokrom-P-450-systemet, hovedsageligt CYP3A.⁸⁻¹¹ Lægemidlet nedbrydes i mindst 8 stofskifteprodukter (M-I – M-VIII) via demetylering og hydroxylering.¹² Den gennemsnitlige halveringstid for tacrolimus *in vivo* estimeres til at være 48 timer.⁸⁻¹¹ Der er også rapporteret om store variationer hos den enkelte patient samt fra patient til patient ved koncentrationer af tacrolimus i fuldblood.¹³ Omhyggelig og hyppig monitorering af tacrolimus anbefales.¹⁴

PRINCIPPER FOR PROCEDUREN

QMS Tacrolimus-immunanalyse er en homogen partikelforstærket turbidimetriske immunanalyse. Analysen er baseret på en konkurrence mellem lægemidlet i prøven og det lægemiddel, der er strøget på en mikropartikel, om antistofbindingssteder for tacrolimus-antistofreagenset. Det tacrolimus-belagte mikropartikelreagens agglutineres hurtigt ved tilstedeværelse af anti-tacrolimus-antistofreagens og ved fravær af et konkurrerende lægemiddel i prøven. Hastigheden af absorptionsændringen måles fotometrisk ved 700 nm. Når der tilsættes en prøve, som indeholder tacrolimus, hæmmes agglutinationsreaktionen delvist, hvilket sænker hastigheden af absorptionsændringen. En koncentrationsafhængig, klassisk agglutinationshæmningskurve kan opnås med den højeste agglutinationshastighed ved den laveste tacrolimus-koncentration, og den laveste agglutinationshastighed ved den højeste tacrolimus-koncentration.

REAGENSER

Reagenskit

QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, leveres som et flydende reagenskit med tre reagenser, der er klar til brug og indeholder:

REAGENT 1 1 x 18 ml

REAGENT 2 1 x 12 ml

EXT Ekstraktionsreagens 1 x 50 ml (arbejdsopløsning påkrævet, se s. 2, Klargøring af ekstraktionsopløsning)

Reaktive ingredienser

INGRED	Ingrediens	Koncentration
REAGENT 1	Anti-tacrolimus-monoklonalt antistof (kanin) Natriumazid	<1,0 % 0,09 %
REAGENT 2	Tacrolimus-belagte mikropartikler Natriumazid	<0,3 % 0,09 %
EXT	Natriumazid	0,09 %

HÅNDTERING OG OPBEVARING AF REAGENSER

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** OG **EXT** (Ekstraktionsreagens) Klar til brug
- Inverter reagenset flere gange før brug for at undgå dannelse af bobler.
- Fjern luftbobler i reagenspatronen. Alternativt kan du lade reagenset sætte sig i den rigtige opbevaringstemperatur for at fjerne boblerne. For at minimere volumenudtømmingen må der ikke anvendes en overførselspipette til at fjerne boblerne.
- Når enten patronen med **REAGENT 1** eller **REAGENT 2** bliver tom, skal du udskifte begge patroner og godkende kalibrering med mindst én prøve for hvert niveau af kontroller i henhold til de fastlagte krav for kvalitetskontrol i dit laboratorium. Hvis kontrolresultaterne falder uden for de acceptable områder, kan en rekalkibrering være nødvendig.
- Se det analysatorspecifikke ark over analysesystemparametre for systemspecifikke oplysninger.
- I tilfælde af uheld med spildt materiale skal materialet fjernes ved rengøring og bortskaffes iht. standardfremgangsmåden (SOP) for dit laboratorium samt lokale og regionale regler.
- Hvis emballagen er beskadiget ved modtagelsen, skal du kontakte repræsentanten for kundesupport (se bagsiden af denne indlægsseddel).

⚠ FORSIGTIG: Reagensbobler kan forhindre korrekt detektering af reagensniveauet i patronen og medføre utilstrækkelig reagensaspiration, hvilket kan påvirke resultaterne. De åbne reagenser er holdbare indtil udløbsdatoen, når de opbevares ved 2 til 8 °C.

Reagenser må ikke nedfryses eller udsættes for temperaturer over 32 °C.

⚠ ADVARSLER OG FORSIGTIGHEDSREGLER

- Kun til *in vitro*-diagnostisk anvendelse. Tag de normale forholdsregler ifm. håndteringen af alle laboratoriereagenser.
- Materialer fra forskellige kit-partinummere må ikke blandes.
- Brug ikke reagenskittene efter udløbsdatoen.

FARE: QMS Tacrolimus Immunoassay indeholder ≤3,0 % humant serumalbumin (HSA) og ≤1,0 % lægemiddel-specifikt antistof (kanin).

QMS Tacrolimus-ekstraktionsreagens indeholder ≤9,0 % zinksulfat (ZnSO₄).

H317 - Kan forårsage allergisk hudreaktion.

H334 - Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding.

H318 - Forårsager alvorlig øjenskade.

H411 - Giftig med langvarige virkninger for vandlevende organismer.

Undgå indånding af tåge eller damp. Kontamineret arbejdstøj må ikke tages med ud fra arbejdspladsen. Brug beskyttelseshandsker/øjenværn/ansigtsbeskyttelse. I tilfælde af utilstrækkelig ventilation skal der bruges åndedrætsværn. Ved kontakt med hud: Vask med rigeligt med sæbe og vand. VED INDÅNDING: Hvis vejrtrækningen er besværet, skal den udsatte person flyttes til frisk luft og holdes i ro i en stilling, der letter vejrtrækningen. Hvis der forekommer hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. Hvis der opleves åndedrætssymptomer: Ring til en GIFTINFORMATION eller en læge. Vask kontamineret tøj, før det bruges igen. Bortskaf indholdet/beholderen i henhold til lokale, regionale, nationale og internationale forordninger.

Undgå frigivelse til miljøet. Brug beskyttelseshandsker/øjenværn/ansigtsbeskyttelse. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en giftinformation eller en læge. Indsaml spildt materiale. Bortskaf indholdet/beholderen i henhold til lokale, regionale, nationale og internationale forordninger.

⚠ FORSIGTIG: Materialer af human oprindelse er testet for HIV1 og 2, hepatitis B og hepatitis C ved hjælp af FDA-godkendt metode, og fundene var negative. Da ingen testmetode dog kan udelukke en potentiel infektionsrisiko med absolut sikkerhed, skal materialet håndteres lige så forsigtigt som en patientprøve. I tilfælde af eksponering skal anvisningerne fra de ansvarlige sundhedsmyndigheder følges.

De reagenser, der bruges til analysekomponenter, indeholder ≤0,09 % natriumazid. Undgå kontakt med huden og slimhinderne. Se sikkerhedsdatabladet for at få yderligere oplysninger om forsigtighedsregler, vejledning i håndtering og behandling ved utilsigtet eksponering.

PRØVETAGNING OG -HÅNDTERING

- Der må kun bruges fuldblodsprøver, der er indsamlet i EDTA-rør. Følg producentens behandlingsinstruktioner for alle prøvetagningsrør. Der skal udvises forsigtighed for at bibeholde integriteten af prøven fra prøvetagningsstart indtil det tidspunkt, hvor den analyseres. Prøver skal mærkes med både tidspunkt for blodprøvetagningen samt sidste indgivelse af lægemidler.
- Prøver skal have påsat hætte og analyseres inden for 7 dage, når de opbevares ved 2-8 °C, eller inden for 6 måneder, når de opbevares ved ≤-20 °C.^{6,10-11} Undgå gentagen nedfrysning og optøning. Undgå, at der opstår skumdannelse i prøverne.

PROCEDURE

Leverede materialer

- QMS Tacrolimus-reagenskit, **[REF]** 10015556

Nødvendige, men ikke medfølgende materialer

- QMS Tacrolimus-kalibratører, **[REF]** 10015573, CAL A: 1 x 4 ml, CAL B-F: 1 x 2 ml hver
- Kvalitetskontrolprodukter
 - Anbefalede materialer:
 - MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA-kontroller, LAV, 280-Q: 4 x 4 ml hver
 - MID, 280-1: 4 x 4 ml hver
 - HØJ, 280-2: 4 x 4 ml hver
 - For andre kommercielt tilgængeligt kvalitetskontrolprodukter kan du kontakte Thermo Fisher Scientific Teknisk Support
- Metanol, HPLC-kvalitet (≥99,8 % renhed)
- Mikrocentrifugerør med afrundet bund
- Automatisk klinisk kemianalysator

Prøveklargøring

Bemærk: Følg anvisningerne og håndteringsanbefalingerne på leverandørspecifikke indlægsseddel til kontrollerne, hvis disse angives.

Giv kalibratører og patientprøverne mulighed for at opnå stuetemperatur før ekstraktion. Kalibratører skal blandes i mindst 15-20 minutter, og patientprøverne skal blandes grundigt ved stuetemperatur før brug. Bland kalibratører og patientprøver grundigt ved at vende dem forsigtigt (der kan om ønsket bruges en rysteenhed). Undgå, at der dannes bobler.

Klargøring af ekstraktionsopløsning

1. Tilføj præcis 10 ml ekstraktionsreagens med stuetemperatur i en ren, tør lufttæt flaske.
2. Tilføj præcis 40 ml metanol i HPLC-kvalitet (≥99,8 % renhed) i flasken, og bland forsigtigt. Påsæt et mærkat med teksten "Tacrolimus-arbejdsekstraktionsopløsning". Registrer den aktuelle dato samt udløbsdatoen (2 ger fra klargøringsdatoen) på mærkatet. Opbevar ved stuetemperatur.

Ekstraktionsprocedure for prøver, kalibratører og kontroller

FØLG NEDENSTÅENDE TRIN NØJE FOR OPTIMALE RESULTATER. UDTAGNE PRØVER SKAL KØRES STRAKS EFTER UDTAGNINGEN.

1. Klargør og marker mikrocentrifugerør med afrundet bund til udtagning af prøver, kalibratører og kontroller. Klargør ét mikrocentrifugerør for hver prøve.
2. Brug en pipette til at afmåle præcist 200 µl af prøve-, kalibrator- eller kontrolmaterialet til et markeret mikrocentrifugerør. Aspirér prøven med pipetten, tør forsigtigt pipettespidsen af på kanten af prøveglasset for at fjerne overskydende prøve, dispenser derefter prøven til den indvendige side af mikrocentrifugerøret. **Bemærk:** Kontrollér pipettespidsen for at sikre, at der ikke er nogen bobler i spidsen. Luft i spidsen er en potentiel kilde til unøjagtighed.
3. Brug en pipette til at afmåle præcist 200 µl ekstraktionsopløsning til et mikrocentrifugerør. Ved klargøring af flere prøver anbefales det at bruge en multipipette til at aspirere og dispensere ekstraktionsopløsningen. Fjern eventuelle luftbobler i pipettespidsen før dispensering af ekstraktionsopløsningen.
4. Sæt hætte på og centrifuger straks mikrocentrifugerøret efter vortexmetoden ved maksimal hastighed i 15-30 sekunder. Inspicer hvert rør for en homogen blanding. Hvis der findes ublandet prøve, skal den ublandede del løsnes og centrifugeres igen efter vortexmetoden.
5. Lad blandingen stå i mikrocentrifugerøret ved stuetemperatur i 5-7 minutter.
6. Placer mikrocentrifugerøret i en centrifuge, og centrifuger i 5 minutter ved en RPM, der svarer til 15.000-16.000 xg.
7. Omhæld supernatanten til en prøvekop (undgå, at der dannes bobler), og kør straks målingen for at minimere fordampningen af prøven. Bank ikke på koppen for at få den sidste dråbe med på en måde, det kan forstyrre pelleten.
8. Bortskaf udtagne prøver efter analysen. Gentest af prøver kræver friske ekstraktioner.

Bemærk: Der kan også fås yderligere tip og anbefalinger til prøveekstraktionstrinene til QMS Tacrolimus-immunanlysen hos Thermo Fisher Scientific Teknisk Support.

Analyseprocedure

Se en detaljeret beskrivelse af, hvordan man køber og kalibrerer en analyse, i den instrumentspecifikke betjeningsvejledning.

Procedure for prøvefortynding

Brug QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml) til at fortynde prøver manuelt uden for analysens linearitet.

Protokol for manuel fortynding

En manuel fortynding kan udføres på patientprøver med tacrolimus-koncentrationer, der er højere end 30 ng/ml, ved at foretage en 1:1-fortynding af prøven med QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml), før prøven udtages. Fortyndingen skal foretages, således at de fortyndede testresultater er højere end analysesensitiviteten på 1 ng/ml. Den rapporterede koncentration skal ganges med den manuelle fortyndingsfaktor for at opnå den endelige prøvekoncentration.

Endelig prøvekoncentration = rapporteret koncentration x manuel fortyndingsfaktor

Manuel fortyndingsfaktor = (Prøvevolumen + CAL A-volumen) ÷ prøvevolumen

KALIBRERING

QMS Tacrolimus-immunanlysen skal kalibreres ved hjælp af en fuld kalibreringsprocedure (6-punkts). For at udføre en fuld kalibrering skal du teste QMS Tacrolimus-kalibratørerne A, B, C, D, E og F. Det er kun QMS Tacrolimus-kalibratørerne, der må bruges med QMS Tacrolimus-immunanlysen. Der kan ikke opnås nøjagtig kvantitativ bestemmelse af tacrolimus, medmindre QMS Tacrolimus-kalibratorsættet, **[REF]** 10015573, anvendes til kalibrering af QMS Tacrolimus-immunanlysen.

Kalibrering er nødvendig med hvert nye partinummer. Godkend kalibreringskurven med mindst én prøve for hvert niveau af kontroller i henhold til de fastlagte krav til kvalitetskontrol i dit laboratorium. Hvis kontrolresultaterne falder uden for de acceptable områder, skal fejlen rettes.

Kalibreringsfrekvens

Rekalibrering anbefales

- Efter udskiftning af parti med kalibrator eller reagens(kit)
- Efter udførelse af månedlig instrumentvedligeholdelse
- Som påkrævet iht. procedurerne for kvalitetskontrol

KVALITETSKONTROL

Alle kvalitetskontroller skal udføres i henhold til lokale, statslige og/eller nationale regler eller godkendelseskrav.

Hvor det er relevant, skal du følge kravene til kvalitetskontrol og eventuelle korrigerende handlinger i standardfremgangsmåden for dit laboratorium og/eller kvalitetssikringsprogram.

Anbefalede kontrolkrav for QMS Tacrolimus-immunanlysen:

- Køb mindst én prøve for hvert niveau af kontroller, hver gang der udtages og analyseres patientprøver.
- Hvis der kræves hyppigere kontrolovervågning, skal du følge de fastlagte procedurer for kvalitetskontrol for dit laboratorium.
- Alle krav til kvalitetskontrol skal overholdes i henhold til lokale, statslige og/eller nationale retningslinjer.
- Hvis resultaterne af kvalitetskontrollen ikke holder sig inden for det acceptable område, som dit laboratorium har defineret, kan patientværdierne være tvivlsomme og må ikke rapporteres. Der skal udføres en korrigerende handling.

RESULTATER

Resultatenhederne for QMS Tacrolimus-immunanlysen rapporteres som ng/ml.

Rapporteringsresultater: Laboratorier skal rapportere, at resultaterne er opnået med QMS Tacrolimus-metoden.

Resultatfejlkoder:

Nogle resultater kan indeholde resultatfejlkoder. Se en beskrivelse af fejlkoderne i den instrumentspecifikke betjeningsvejledning.

BEGRÆNSNINGER I FREMGANGSMÅDEN

- Koncentrationerne af tacrolimus i en given prøve som bestemt med analyser fra forskellige producenter kan variere pga. forskellige i analysemetoder og reagensspecifitet. Den anbefales at foretage konsekvent monitorering med én analyse.
- **Immunanalyser er ikke-specifikke og krydsreagerer med stofskifteprodukter. Pga. dette kan immunanalyser overvurderer koncentrationen af tacrolimus (se afsnittet Metodesammenligning). Når elimineringen af tacrolimus er hæmmet, kan der akkumuleres stofskifteprodukter i større omfang, hvilket medfører en større overvurdering. I sådanne tilfælde skal det overvejes at bruge en specifik analyse (f.eks. kromatografisk metode).**
- Interfererende heterofile antistoffer forekommer med lav hyppighed blandt befolkningen. Disse antistoffer kan medføre fejlagtige resultater (herunder fejlagtigt lave resultater forårsaget af agglutination i mikropartikelreagenset).
- Testfundene skal altid vurderes i forbindelse med patientens anamnese, kliniske undersøgelser og andre fund. Der skal udføres yderligere test for at bekræfte resultaterne, når resultaterne ikke stemmer overens med kliniske beviser.

- Se indlægssedlen til PROGRAF for oplysninger om virkninger ved samtidig indgivelse af lægemidler samt lægemidler, der kan øge eller reducere tacrolimus-koncentrationerne.¹⁴

FORVENTEDE VÆRDIER

Det optimale terapeutiske område for tacrolimus i fuldblod er ikke blevet fastlagt med denne analyse. Det terapeutiske område for tacrolimus kan variere afhængigt af de kliniske faktorer og den anvendte metode.

På grund af den heterogene natur af patientens kliniske tilstand, skal klinikere fastlægge et ønsket terapeutisk administrationsområde ud fra deres egen erfaring samt de kliniske krav for hver patient. Ændringer til behandlingsregimen må ikke baseres på tacrolimus-værdierne alene. Forskelle i sensitiviteten over for immunosuppressive og nefrotoksiske virkninger af tacrolimus, samtidig indgivelse af andre immunosuppressive, transplantationstypen, tiden efter transplantationen og en række andre faktorer bidrager til forskellige krav for optimale tacrolimus-blodniveauer.

De optimale områder kan variere afhængigt af den anvendte test og skal derfor fastlægges for hver kommerciel test. Værdier, der er opnået ved hjælp af forskellige analyser, kan ikke bruges indbyrdes på grund af forskelle i metoderne og krydsreaktivitet, og korrektionsfaktorer må heller ikke anvendes. Der anbefales en konsekvent brug af én analyse for individuelle patienter.

SPECIFIKKE YDELSESEGNSKABER

De repræsentative ydelsesresultater, der er opnået i en kommercielt tilgængelig automatisk klinisk kemianalysator, der involverer turbidimetrisk kvantitativ analyse, vises nedenfor. Medmindre andet er angivet, er alle analyser udført i overensstemmelse med den heri angivne analyseprocedure ved hjælp af Beckman AU680-analysatoren. De resultater, der er opnået på individuelle laboratorier, kan afvige fra disse data. For yderligere analysatorspecifikke ydelsesdata kan du se den analysatorspecifikke applikationsprotokol eller ringe til Thermo Fisher Scientific Teknisk Support for at få hjælp.

Rapporterbart område

Det rapporterbare område for QMS Tacrolimus-immunanlysen er 1 ng/ml (minimumsværdi for rapportering baseret på funktional sensitivitet) til 30 ng/ml tacrolimus.

Funktional sensitivitet (kvantificeringsgrænse)

Den funktionelle sensitivitet repræsenterer den laveste tacrolimus-koncentration, der kan måles med en præcision på 20 % CV i analysen. Undersøgelsen blev udført med fuldbloodsprøver, der var tilsat tacrolimus i området fra 0,5 til 5,0 ng/ml for én måling pr. kørsel, to gange om dagen, i 30 dage med i alt 60 datapunkter. Ved den øvre konfidensgrænse på 95 % blev kvantificeringsgrænsen beregnet til at være 0,9 ng/ml, hvilket understøtter den nedre analysegrænse på 1,0 ng/ml. Den observerede procent for gendannelse ved 0,9 ng/ml er 102,0 %.

Fortyndingslinearitet

Der blev udført en linearitetsundersøgelse ved at fortynde en tacrolimus-prøve med høj koncentration med QMS Tacrolimus-kalibrator A til koncentrationer, der var jævnt fordelt i hele analyseområdet. Den procentvise gendannelse blev derefter bestemt ved at dividere den målte tacrolimus-koncentration med den forventede koncentration. De forventede koncentrationer blev bestemt ved hjælp af den høje testkoncentration ganget med en fortyndingsfaktor.

% af høj prøve	Forventet koncentration (ng/ml)	Målt koncentration (ng/ml)	Gendannelse (%)
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	I/T

Forventet koncentration = % af høj prøve x høj målt koncentration

Gendannelse (%) = (målt koncentration ÷ forventet koncentration) x 100

Gendannelse

Negative fuldbloodsprøve blev tilsat ukendte mængder tacrolimus ved koncentrationer i hele LC-MS/MS området. Tacrolimus-koncentrationerne for disse prøver blev verificeret med en LC-MS/MS og testet med QMS Tacrolimus-immunanlysen. Resultaterne vises nedenfor.

Prøve-id	n	Forventet koncentration (ng/ml)	Målt koncentration (ng/ml)	Gendannelse (%)
Prøve 1	21	2,7	2,7	101,8
Prøve 2	21	9,8	10,8	109,4
Prøve 3	21	18,0	17,7	98,2
Prøve 4	21	19,8	21,3	107,5
Prøve 5	21	27,0	27,1	100,4

Gendannelse (%) = (målt koncentration ÷ forventet koncentration) x 100

Præcision

Præcisionen blev vurderet med fuldbloodspoolede patientprøver og prøver med tilsætning. Undersøgelsen blev udført som beskrevet i CLSI-protokollen EP5-A2.¹⁵ Hver prøve blev kørt som dublet to gange dagligt i 20 dage. Der blev beregnet gennemsnit samt SD og %CV, inden for kørslen og for samlet kørsel. De repræsentative resultater vises nedenfor.

Prøver	n	Gennemsnit (ng/ml)	Inden for kørsel		Samlet kørsel	
			SD	%CV	SD	%CV
Prøve A med tilsætning	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Prøve B med tilsætning	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Prøve C med tilsætning	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Patientprøve A	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Patientprøve B	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Patientprøve C	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

Metodesammenligning

Der blev udført korrelationsundersøgelser for at sammenligne QMS Tacrolimus-immunanlysen med LC-MS/MS-metoder (system 1 og system 2) og Abbott ARCHITECT® Tacrolimus-analysen. I undersøgelserne blev der brugt EDTA-prøver med humant fuldblod fra nyre-, lever- og hjertetransplanterede patienter, der tog tacrolimus. Alle testede prøver bestod hovedsagelig af prøver fra voksne patienter, der generelt havde fået foretaget transplantationer for mere end 9 måneder siden. De testede patienter modtog lægemiddelsregimener med tacrolimus enten alene eller indgivet samme med ét andet immunosuppressivt lægemiddel, som f.eks. Mycophenolate Mofetil (MMF), Mycophenolic Acid (MPA), Sirolimus, Everolimus eller kortikosteroider. Resultaterne af Demings regressionsanalyse¹⁶ mellem de forskellige metoder er vist i tabellen nedenfor.

Komparativ metode	n	Hældning (95 % CI*)	Skæringspunkt (95 % CI)	Korrelationskoefficient (R)
LC-MS/MS-system 1	383	1,111 (1,084 til 1,137)	0,53 (0,31 til 0,76)	0,972
LC-MS/MS-system 2	232	1,130 (1,092 til 1,167)	0,71 (0,42 til 1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT Tacrolimus-analyse	208	1,126 (1,071 til 1,181)	-0,03 (-0,63 til 0,56)	0,937

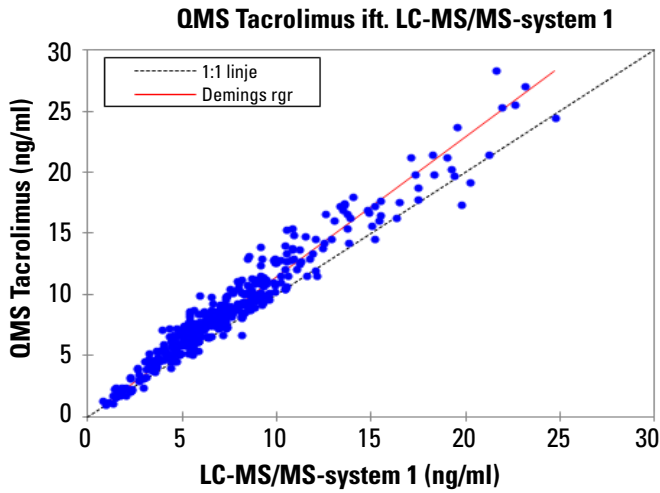
*Konfidensinterval (CI)

QMS Tacrolimus-prøveområde: 1,0 til 30,8 ng/ml

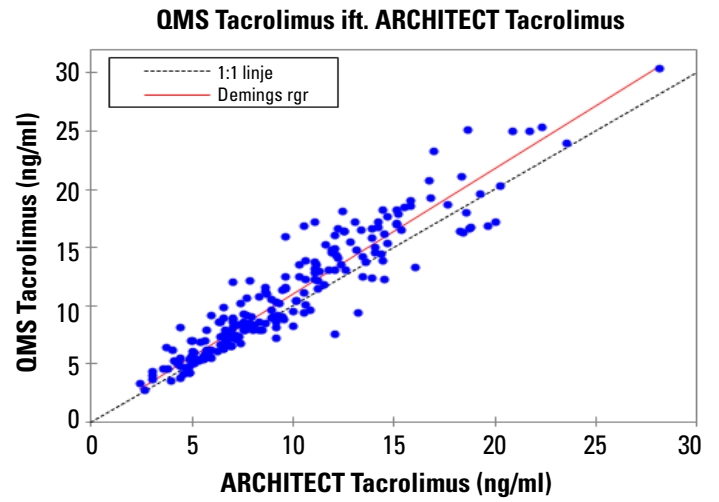
LC-MS/MS-prøveområde: 0,8 til 29,5 ng/ml

ARCHITECT Tacrolimus-prøveområde: 2,4 til 28,1 ng/ml

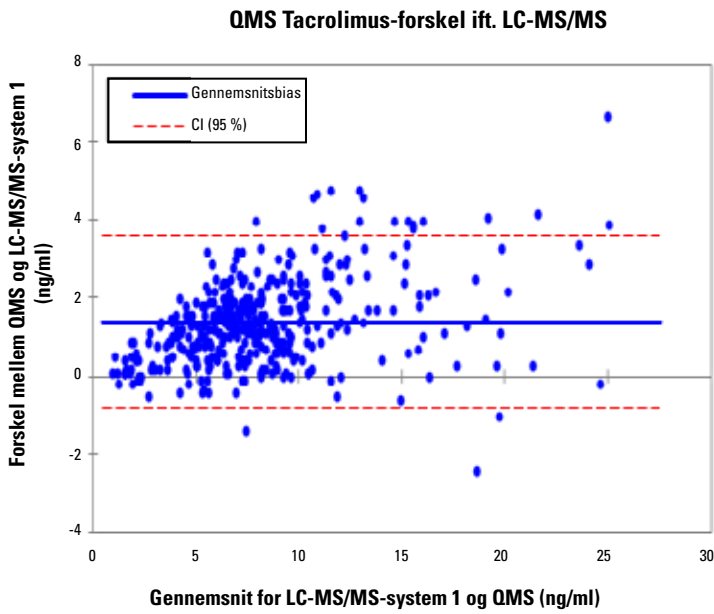
Spredningskurve for resultater fra QMS Tacrolimus ift. LC-MS/MS-system 1 for kombinerede nyre-, lever- og hjertetransplantationsprøver.



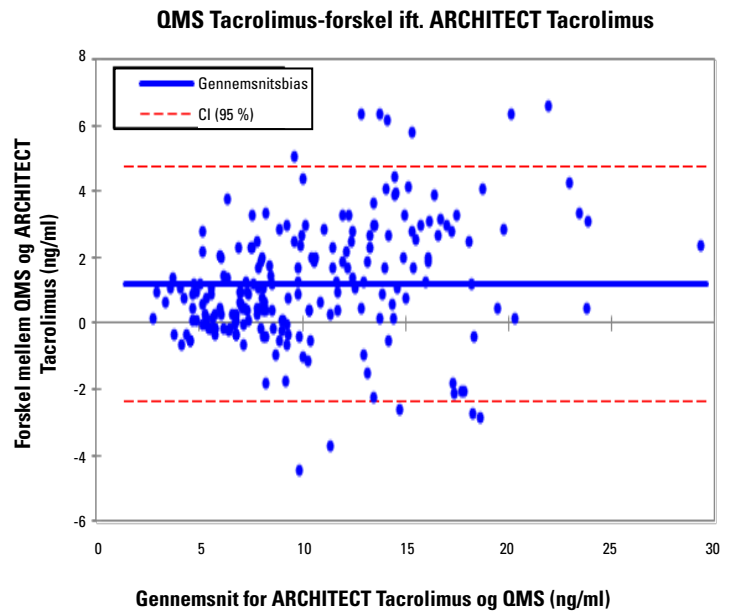
Spredningskurve for resultater fra QMS Tacrolimus ift. Abbott ARCHITECT Tacrolimus for kombinerede nyre- og levertransplantationsprøver.



Bland-Altman-biasplot¹⁷ for resultater fra QMS Tacrolimus ift. LC-MS/MS-system 1 for kombinerede nyre-, lever- og hjertetransplantationsprøver. Gennemsnitsbias beregnes som den gennemsnitlige forskel mellem QMS Tacrolimus-immunanlysen- og LC-MS/MS-system 1-resultater.



Bland-Altman-biasplot¹⁷ for resultater fra QMS Tacrolimus ift. Abbott ARCHITECT Tacrolimus-analysen for kombinerede nyre- og levertransplantationsprøver. Gennemsnitsbias beregnes som den gennemsnitlige forskel mellem QMS Tacrolimus-immunanlyse- og ARCHITECT Tacrolimus-resultater.



Specificitet

Der blev udført specificitetsundersøgelser ved hjælp af CLSI-protokol EP7-A2 som retningslinje.¹⁸ Krydsreaktivitet blev testet for de tilgængelige overordnede stofskifteprodukter for tacrolimus. Anden medicin, der indgives rutinemæssigt med tacrolimus, blev også testet for at bestemme, om disse forbindelser påvirker kvantificeringen af tacrolimus ved hjælp af QMS Tacrolimus-immunanalyse.

Krydsreaktiviteten for stofskifteprodukter blev beregnet ved hjælp af formlen:

$$\text{Krydsreaktivitet (\%)} = \frac{\text{målt koncentration} - \text{forventet koncentration}}{\text{Krydsreaktant koncentration}} \times 100$$

Krydsreaktivitet med tacrolimus-stofskifteprodukter

Krydsreaktiviteten for QMS Tacrolimus-immunanalyse over for overordnede tacrolimus-stofskifteprodukter er angivet i følgende tabel. De testede forbindelser blev føjet til prøver med humant fuldblod indeholdende to koncentrationer af tacrolimus og testet i tre replikater. Den procentvise krydsreaktivitet blev beregnet.

Tacrolimus-stofskifteprodukter	Koncentration af stofskifteprodukt (ng/ml)	Forventet koncentration (ng/ml)	Målt koncentration (ng/ml)	Gendannelse (%)	Krydsreaktivitet (%)
M-I (13-O-demethyl)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-demethyl)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-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-O-didemethyl)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-didemethyl) + M-VI (13,31-O-didemethyl)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Gendannelse (%) = (målt koncentration ÷ forventet koncentration) × 100

Den observerede krydsreaktivitet med tacrolimus-stofskifteproduktet M-IV var ≤174,8 %. Tacrolimus-stofskifteproduktet M-V og M-VIII er ikke blevet vurderet for bestemmelse af mulig krydsreaktivitet.

Tacrolimus-patientprøver indeholder lave koncentrationer af tacrolimus-stofskifteprodukter sammenlignet med moderlægemidlet, med ca. 6 % M-I, 15 % M-II, 6 % M-III og nærmest uregistrerbart M-IV.^{9,12,19}

Interfererende stoffer

Interferensundersøgelser blev udført ved hjælp af CLSI-protokollen EP7-A2 som retningslinje.¹⁸ QMS Tacrolimus-immunanalyse blev testet med samtidig indgivelse af lægemidler med tacrolimus og almindelige lægemidler for at kontrollere for eventuel potentiel interferens. De testede forbindelser blev tilføjet til prøver med humant fuldblod indeholdende ca. 5 og 12 ng/ml tacrolimus-lægemiddel og blev testet ved hjælp af QMS Tacrolimus-immunanalyse. Gendannelse af tacrolimus-koncentration med mere end 10 % fejl blev betraget som interferens med analysen. De testede forbindelser i de koncentrationer, der er angivet i tabellen nedenfor, udviser ikke nogen interferens med analysen. Den gennemsnitlige procent for tacrolimus-gendannelse var fra 91 % til 109 %.

Forbindelse	Koncentration (ng/ml)	Forbindelse	Koncentration (ng/ml)
Acetaminophen	200.000	Kanamycin B-sulfat	100.000
Acycloguanosin/Acyclovir	1.000.000	Ketoconazol	100.000
Allopurinol	50.000	Labetalol	17.100
Amikacinsulfat	150.000	Lidokain	100.000
Amphotericin B	100.000	Litium	35.000
Ampicillin	100.000	Lovastatin	20.000
Apresolin/Hydralazin	100.000	Methylprednisolon	100.000
Atenolol	40.000	Metoclopramid	100.000
Azathioprin	100.000	Minoxidil	60.000
Azithromycin	5.000	Morfinsulfat	100.000

Tablet forsættes

Forbindelse	Koncentration (ng/ml)	Forbindelse	Koncentration (ng/ml)
Bromocriptin/2-bromo- α -ergocryptin	8.000	Mycophenolsyre	100.000
Carbamazepin	120.000	N-acetylprocainamid	120.000
Cefazolin	150.000	Nadolol	1.200
Ceftriaxon	500.000	Naproxen	100.000
Cephalosporin C	100.000	Nicardipin	500
Chlorpromazin	50.000	Nikotin	20.000
Chloramphenicol	250.000	Nifedipin	100.000
Chlordiazepoxid	20.000	Penicillin G	100.000
Chloroquin	1.500	Pentobarbital	100.000
Cimetidin	100.000	Phenobarbital	150.000
Ciprofloxacin	7.400	Phenytoin	100.000
Clarithromycin	5.000	Prazosin	100.000
Clonidin	100	Prednisolon	100.000
Colchicin	90	Prednison	100.000
Cortison	1.200	Primidon	100.000
Cyclosporin/cyclosporin A	10.000	Probucol	600.000
Diazepam	20.000	Procainamid	100.000
Digitoxin	100.000	Propoxyphen	4.000
Digoxin	10.000	Propranolol	40.000
Diltiazem	60.000	Quinidin	100.000
Disopyramid	100.000	Ranitidin	200.000
Erythromycin	200.000	Rifampin/rifampicin	100.000
Ethosuximid	300.000	Salicylsyre	500.000
Everolimus	100	Sirolimus (rapamycin)	300
Famotidin	10.000	Spectinomycin	100.000
Fluconazol	100.000	Streptomycin	100.000
Flucytosin/5-fluorocytosin	40.000	Sulfamethoxazol	150.000
Furosemid	100.000	Theophyllin	250.000
Ganciclovir	1.000.000	Ticlopidin	150.000
Gemfibrozil	100.000	Tobramycin	100.000
Gentamicin	120.000	Triamteren	100.000
Hydroklorotiazid	40.000	Trimethoprim	40.000
Hydrocortisol	100.000	Valproinsyre	500.000
Ibuprofen	400.000	Vancomycin	100.000
Itraconazol	100.000	Verapamil	100.000
Kanamycin A-sulfat	100.000		

De følgende potentielt interfererende endogene stoffer udviste en gendannelse på 92 % til 108 % ved test med QMS Tacrolimus-immunanalyse ved de angivne koncentrationer.

Potentielt interfererende stof	Koncentration
Albumin	12 g/dl
Bilirubin	60 mg/dl
Kolesterol	500 mg/dl
Kreatinin	5 mg/dl
Triglycerid	1.500 mg/dl
Urinsyre	20 mg/dl
IgG gammaglobulin	12 g/dl
Rheumafaktor	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hæmatokrit	12 %-64 %

*HAMA = humane anti-mus-antistoffer

BIBLIOGRAFI

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® [indlægsseddel]. 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.

Symbolforklaring:

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



Producent:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Gratisnummer i USA: 800-626-0690



Autoriseret repræsentant i EU:
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Kundeservice

Gratisnummer i USA: 1-800-232-3342
Andre lande: Kontakt den lokale Microgenics-repræsentant.

Bio-Rad Lyphocheck® er et registreret varemærke tilhørende Bio-Rad®.
MORE Diagnostics Controls tilhører MORE Diagnostics, Inc.
ARCHITECT er et registreret varemærke tilhørende Abbott Laboratories®.
Alle andre varemærker tilhører Thermo Fisher Scientific Inc. og dets datterselskaber.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle rettigheder forbeholdes.



Se opdateringer til indlægssedlen på:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-12-DA
2021 01

thermo
scientific