

Rx Only

In-vitro-Diagnostikum

REF 10015556

Diese Packungsbeilage zum Quantitative Microsphere System (QMS) muss vor Gebrauch aufmerksam gelesen werden. Die Anweisungen in der Packungsbeilage sind entsprechend zu beachten. Wenn von den Anweisungen in dieser Packungsbeilage abgewichen wird, kann die Zuverlässigkeit der Assay-Ergebnisse nicht garantiert werden.

VERWENDUNGSZWECK

Der QMS Tacrolimus-Immunoassay ist für die quantitative Bestimmung von Tacrolimus in menschlichem Vollblut mit klinisch-chemischen Analysenautomaten vorgesehen. Die Ergebnisse werden zur Unterstützung der Tacrolimus-Therapie bei Patienten mit Nieren-, Leber- oder Herztransplantaten verwendet. Dieses *In-vitro-Diagnostikum* ist ausschließlich für klinische Laboruntersuchungen bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Tacrolimus (FK506, PROGRAF[®]) ist ein Makrolidantibiotikum mit fungalen Ursprungs (isoliert aus *Streptomyces tsukubaensis*) mit starken immunsuppressiven Wirkungen, die bei Patienten nach einer Nieren- bzw. Lebertransplantation erwünscht sind.¹ Tacrolimus hemmt Kalzineurin, eine Phosphatase, und aktiviert die T-Zellen-Proliferation.²⁻⁴ Tacrolimus bindet sich intrazellulär an eine Gruppe von Proteinen, die sog. FKBP (FK506-Bindungsproteine), und bildet damit einen pentamerischen Komplex bestehend aus Tacrolimus, FKBP, Kalzineurin A und B sowie Kalmodulin.²⁻⁵ Durch die Pentamerbildung kommt es zu einer Hemmung der Phosphataseaktivität von Kalzineurin, die zur Aktivierung von Transkriptionsfaktoren für den Transport in den Zellkern benötigt wird. Dadurch wird die Genexpression von T-Lymphozyten, insbesondere bei Zytokinen wie IL-2 gestört, was zu einer immunsuppressiven Wirkung bei den Patienten führt.²⁻⁵

Die Verteilung von Tacrolimus zwischen Vollblut und Plasma hängt von mehreren Faktoren ab, wie dem Hämatokrit, der Arzneimittelkonzentration und der Konzentration des Plasmaproteins. Das Verhältnis von Vollblut zur Plasmakonzentration lag im Durchschnitt bei 35 (in einem Bereich von 12 bis 67).⁶⁻⁷ Tacrolimus wird vom Cytochromsystem P-450, und zwar hauptsächlich von CYP3A, schnell metabolisiert.⁸⁻¹¹ Das Arzneimittel wird durch Demethylierung und Hydroxylierung in 8 Metaboliten (M1–M8) metabolisiert.¹² Die Halbwertszeit von Tacrolimus liegt in vivo bei durchschnittlich 48 Stunden.⁸⁻¹¹ Außerdem wurden große Unterschiede in den Tacrolimus-Konzentrationen im Vollblut der einzelnen Patienten sowie zwischen den verschiedenen Patienten festgestellt.¹³ Daher muss die Tacrolimus-Konzentration sorgfältig und häufig kontrolliert werden.¹⁴

GRUNDLAGEN DES VERFAHRENS

Der QMS Tacrolimus-Immunoassay ist ein homogener partikelverstärkter turbidimetrischer Immunoassay. Der Assay basiert auf der Konkurrenz des freien Arzneistoffs in der Probe mit dem Arzneistoff auf einem Mikropartikel um die Antikörper-Bindungsstellen des Tacrolimus-Antikörperreagens. Das mit Tacrolimus markierte Mikropartikelreagens agglutiniert in Gegenwart des Anti-Tacrolimus-Antikörperreagens schnell, sofern sich kein konkurrierender Arzneistoff in der Probe befindet. Die Geschwindigkeit der Extinktionsänderung wird photometrisch bei 700 nm gemessen. Wenn eine Probe zugegeben wird, die Tacrolimus enthält, wird die Agglutinationsreaktion teilweise gehemmt, sodass sich die Extinktionsänderung verlangsamt. Eine klassische, konzentrationsabhängige Agglutinationshemmkurve zeigt die maximale Agglutinationsrate bei der niedrigsten Tacrolimus-Konzentration und die geringste Agglutinationsrate bei der höchsten Tacrolimus-Konzentration.

REAGENZIEN

Reagenzien-Kit

QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, wird als Kit mit drei gebrauchsfertigen, flüssigen Reagenzien geliefert. Das Kit enthält:

REAGENT 1 1 x 18 ml

REAGENT 2 1 x 12 ml

EXT 1 x 50 ml Extraktionsreagens (Arbeitslösung erforderlich, siehe Seite 2, „Vorbereitung der Extraktionslösung“)

Reaktive Bestandteile

INGRED	Inhaltsstoff	Konzentration
REAGENT 1	Monoklonale Anti-Tacrolimus-Antikörper (Kaninchen) Natriumazid	< 1,0 % 0,09 %
REAGENT 2	Mit Tacrolimus markierte Mikropartikel Natriumazid	< 0,3 % 0,09 %
EXT	Natriumazid	0,09 %

HANDHABUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** und **EXT** (Extraktionsreagens) sind gebrauchsfertig.
- Vor Gebrauch mehrmals umdrehen und dabei Blasenbildung vermeiden.

- Luftblasen in der Reagenskartusche ggf. entfernen. Alternativ kann das Reagens bei der entsprechenden Lagerungstemperatur stehen gelassen werden, bis die Luftblasen entwichen sind. Zur Minimierung der Volumendepletion die Luftblasen nicht mit einer Transferpipette entfernen.
- Wenn die Reagenskartusche **REAGENT 1** oder **REAGENT 2** leer ist, beide Kartuschen ersetzen und die Kalibrierung mit mindestens einer Probe jeder Kontrollkonzentration gemäß den Qualitätskontrollvorschriften des Labors überprüfen. Falls die Ergebnisse mit den Kontrollen außerhalb der akzeptablen Bereiche liegen, ist u. U. eine erneute Kalibrierung nötig.
- Die systemspezifischen Informationen sind im analysatorspezifischen Datenblatt mit den Assay-Systemparametern zu finden.
- Falls Material versehentlich verschüttet wird, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.
- Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe Rückseite dieser Packungsbeilage).



VORSICHT: Luftblasen im Reagens können die Bestimmung des Reagenzienfüllstands in der Kartusche behindern, was zu unzureichender Aspiration des Reagens und damit einer Beeinflussung der Ergebnisse führen kann. Ungeöffnete Reagenzien sind bei einer Lagerungstemperatur von 2 bis 8 °C bis zum Verfallsdatum stabil.

Reagenzien nicht einfrieren oder Temperaturen über 32 °C aussetzen.



WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- *In-vitro-Diagnostikum:* Die im Umgang mit Laborreagenzien normalerweise erforderlichen Vorsichtsmaßnahmen sind anzuwenden.
- Materialien mit verschiedenen Kitchargennummern dürfen nicht gemischt werden.
- Reagenskits nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.

GEFAHR: QMS Tacrolimus Immunoassay enthält ≤ 3,0 % Humanserumalbumin (HSA) und ≤ 1,0 % arzneimittelspezifische Antikörper.

QMS Tacrolimus Extraction-Reagenz enthält ≤ 9,0 % Zinksulfat (ZnSO₄).

H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 - Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

H318 - Verursacht schwere Augenschäden.

H411 - Giftig für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung

Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Sofort Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Verschüttete Mengen auffangen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.



VORSICHT: Material menschlichen Ursprungs wurden durch eine von der FDA zugelassene Methode auf HIV-1 und 2, Hepatitis B und Hepatitis C getestet. Die Ergebnisse waren negativ. Da jedoch mit keiner Testmethode das potenzielle Infektionsrisiko mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden kann, muss mit dem Material genauso vorsichtig umgegangen werden wie mit einer Patientenprobe. Bei Kontakt mit dem Material sind die Richtlinien der zuständigen Gesundheitsbehörden zu befolgen.

Die Reagenzien des Assays enthalten ≤ 0,09 % Natriumazid. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Weitere Vorsichtsmaßnahmen, Anweisungen zur Handhabung und Informationen zu den Maßnahmen bei versehentlicher Exposition sind im Sicherheitsdatenblatt zu finden.

PROBENENTNAHME UND -HANDHABUNG

- Ausschließlich in EDTA-Röhrchen gesammelte Vollblutproben verwenden. Bei allen Probenentnahmeröhrchen sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten. Die Integrität der Probe muss von der Entnahme bis zur Durchführung des Tests unbedingt gewahrt werden. Die Proben sind mit dem Zeitpunkt der Blutabnahme und dem Zeitpunkt der letzten Arzneimittelgabe zu kennzeichnen.
- Die Blutproben sollten verschlossen und bei einer Lagerungstemperatur von 2–8 °C innerhalb von 7 Tagen bzw. bei einer Lagerungstemperatur von ≤ –20 °C innerhalb von 2 Monaten analysiert werden.^{6,10-11} Wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden. Die Blutproben nicht aufschäumen.

VERFAHREN

Mitgeliefertes Material

- QMS Tacrolimus-Reagenzien-Kit [REF] 10015556

Zusätzlich erforderliches Material (nicht im Lieferumfang)

- QMS Tacrolimus-Kalibratoren, [REF] 10015573, Kal. A: 1 x 4 ml, Kal. B–F: je 1 x 2 ml
- Qualitätskontrollprodukte
 - Empfohlene Materialien:
 - MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA-Kontrollen, NIEDRIG, 280-Q: je 4 x 4 ml
 - MITTEL, 280-1: je 4 x 4 ml
 - HOCH, 280-2: je 4 x 4 ml
 - Informationen zu anderen erhältlichen Qualitätskontrollprodukten erhalten Sie vom technischen Support von Thermo Fisher Scientific.
- Methanol, HPLC-Qualität (≥ 99,8 % rein)
- Mikrozentrifugenröhrchen mit rundem Boden
- Klinisch-chemischer Analysenautomat

Probenvorbereitung

Hinweis: Bitte beachten Sie die herstellereigenen Anweisungen und Empfehlungen auf der Packungsbeilage der Kontrollen (falls vorhanden).

Vor der Extraktion die Proben, Kalibratoren und Kontrollen auf Raumtemperatur äquilibrieren lassen. Die Kalibratoren sollten mindestens 15–20 gemischt werden. Die Proben vor der Verwendung gründlich bei Raumtemperatur mischen. Kalibratoren und Proben durch vorsichtiges Umdrehen gut mischen (vorzugsweise mithilfe eines Wippschüttlers). Blasenbildung vermeiden.

Vorbereitung der Extraktionslösung

1. Genau 10 ml des zimmerwarmen Extraktionsreagens in eine saubere, trockene und luftdichte Flasche füllen.
2. Genau 40 ml Methanol in HPLC-Qualität (≥ 99,8 % rein) in die Flasche geben und vorsichtig mischen. Die Flasche mit „Tacrolimus-Arbeitsextraktionslösung“ beschriften. Das aktuelle Datum und das Verfallsdatum (2 Wochen nach Herstellungsdatum) auf dem Etikett vermerken. Bei Raumtemperatur aufbewahren.

Extraktionsverfahren für Proben, Kalibratoren und Kontrollen

OPTIMALE ERGEBNISSE SIND NUR GEWÄHRLEISTET, WENN DIE FOLGENDEN SCHRITTE GENAU EINGEHALTEN WERDEN. DIE EXTRAKTE MÜSSEN SOFORT NACH DER EXTRAKTION BENUTZT WERDEN.

1. Die Mikrozentrifugenröhrchen für die Extraktion von Proben, Kalibratoren und Kontrollen vorbereiten und beschriften. Für jede Probe ein Mikrozentrifugenröhrchen vorbereiten.
2. Genau 200 µl des Proben-, Kalibrator- oder Kontrollmaterials in das beschriftete Mikrozentrifugenröhrchen pipettieren. Die Probe mit der Pipette aufnehmen, mit der Pipettenspitze vorsichtig über den Rand des Probenfläschchens streichen, um überschüssiges Material abzustreifen, und die Probe an die Innenwand des Mikrozentrifugenröhrchens ausstoßen. **Hinweis:** Die Pipettenspitze auf Luftblasen überprüfen. Wenn sich Luft in der Spitze befindet, kann es zu Ungenauigkeiten kommen.
3. Genau 200 µl der Extraktionslösung in das Mikrozentrifugenröhrchen pipettieren. Wenn mehrere Proben vorbereitet werden, wird eine Repetierpipette zum Aufnehmen und Ausstoßen der Extraktionslösung empfohlen. Vor dem Ausstoßen der Extraktionslösung evtl. in der Pipettenspitze vorhandene Luftblasen entfernen.
4. Das Mikrozentrifugenröhrchen verschließen und sofort 15–30 Sekunden lang mit höchster Geschwindigkeit vortexen. Bei jedem Röhrchen überprüfen, ob die Mischung homogen ist. Falls dies nicht der Fall ist, den nicht vermischten Teil entfernen und erneut vortexen.
5. Die Mischung im Mikrozentrifugenröhrchen für 5–7 Minuten bei Raumtemperatur stehen lassen.
6. Das Mikrozentrifugenröhrchen in eine Zentrifuge stellen und 5 Minuten lang mit einer Drehzahl zentrifugieren, die 15.000–16.000 xg entspricht.
7. Den Überstand in ein Probengefäß dekantieren (Blasenbildung vermeiden) und sofort die Messung durchführen, damit möglichst wenig Material verdunstet. Wenn versucht wird, den letzten Tropfen aus dem Gefäß zu entfernen, das Pellet nicht durch Klopfen aufwirbeln.
8. Die Extrakte nach der Analyse entsorgen. Für Proben, die erneut analysiert werden sollen, sind neue Extrakte erforderlich.

Hinweis: Wenn Sie weitere Tipps und Empfehlungen zur Extraktion von Proben für den QMS Tacrolimus-Immunoassay benötigen, wenden Sie sich an den technischen Support von Thermo Fisher Scientific.

Durchführung des Assays

Eine detaillierte Beschreibung der Durchführung und Kalibrierung des Assays ist in der instrumentenspezifischen Bedienungsanleitung zu finden.

Verdünnung der Probe

Zur manuellen Verdünnung von Proben, deren Konzentration außerhalb des linearen Bereichs des Assays liegt, QMS Tacrolimus-Kalibrator A (0,0 ng/ml) verwenden.

Manuelle Verdünnung

Blutproben mit einer Tacrolimus-Konzentration von mehr als 30 ng/ml können vor dem Extrahieren der Probe manuell mit dem QMS Tacrolimus-Kalibrator A (0,0 ng/ml) im Verhältnis 1:1 verdünnt werden. Die Verdünnung muss so durchgeführt werden, dass die Ergebnisse der verdünnten Probe über der Assay-Sensitivität von 1 ng/ml liegen. Die als Ergebnis erhaltene Konzentration muss mit dem manuellen Verdünnungsfaktor multipliziert werden, um die endgültige Probenkonzentration zu erhalten.

Endgültige Probenkonzentration = Gemessene Konzentration x Manueller Verdünnungsfaktor

Manueller Verdünnungsfaktor = (Probenvolumen + Volumen von Kal. A) / Probenvolumen

KALIBRIERUNG

Der QMS Tacrolimus-Immunoassay muss mit einem vollständigen Kalibrierverfahren (6 Punkte) kalibriert werden. Hierzu müssen die QMS Tacrolimus-Kalibratoren A, B, C, D, E und F getestet werden. Für den QMS Tacrolimus-Immunoassay dürfen nur die QMS Tacrolimus-Kalibratoren verwendet werden. Wenn für die Kalibrierung des QMS Tacrolimus-Immunoassays nicht das QMS Tacrolimus-Kalibratorset [REF] 10015573 verwendet wird, ist keine exakte quantitative Tacrolimus-Bestimmung möglich.

Für jede neue Charge muss eine Kalibrierung durchgeführt werden. Die Kalibrationskurve muss mit mindestens einer Probe jeder Kontrollkonzentration gemäß den Qualitätskontrollvorschriften des Labors überprüft werden. Falls die Ergebnisse mit den Kontrollen außerhalb der akzeptablen Bereiche liegen, sind entsprechende Korrekturmaßnahmen erforderlich.

Kalibrierungshäufigkeit

Eine erneute Kalibrierung ist in den folgenden Situationen zu empfehlen:

- Nach einem Wechsel der Kalibratoren- oder Reagenzcharge (Kit)
- Nach Durchführung der monatlichen Gerätewartung
- Im Bedarfsfall nach den Qualitätskontrollverfahren

QUALITÄTSKONTROLLE

Alle Qualitätskontrollen müssen in Übereinstimmung mit den örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

Zusätzliche Qualitätskontrollanforderungen und mögliche Korrekturmaßnahmen sind in den Standardarbeitsanweisungen des Labors und/oder im Qualitätssicherungsplan zu finden.

Empfohlene Kontrollverfahren für den QMS Tacrolimus-Immunoassay:

- Für jede Blutprobenanalyse sollte mindestens eine Probe jeder Kontrollkonzentration getestet werden.
- Wenn eine häufigere Überwachung mit Kontrollen erforderlich ist, sind die festgelegten Qualitätskontrollverfahren für das Labor zu befolgen.
- Alle Qualitätskontrollen müssen in Übereinstimmung mit den vor Ort geltenden und den Landes- und/oder Bundesvorschriften durchgeführt werden.
- Falls die Ergebnisse der Qualitätskontrolle außerhalb des im Labor definierten akzeptablen Bereichs liegen, können die Blutprobenwerte falsch sein und sollten nicht gemeldet werden. Es sind dann Korrekturmaßnahmen durchzuführen.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse des QMS Tacrolimus-Immunoassays werden in der Einheit ng/ml angegeben.

Ergebnismeldung: Labore sollten melden, dass die Ergebnisse mit dem QMS Tacrolimus-Verfahren erzielt wurden.

Fehlermeldungen bei den Ergebnissen:

Ergebnisse können Ergebnisfehlercodes enthalten. Die Beschreibung solcher Codes ist in der gerätespezifischen Bedienungsanleitung zu finden.

GRENZEN DES VERFAHRENS

- Aufgrund der Unterschiede bei den Assay-Methoden und der Reagenzspezifität kann es bei der ermittelten Tacrolimus-Konzentration zu Abweichungen kommen, wenn dieselbe Probe mit Assays verschiedener Hersteller getestet wird. Es wird daher die konsistente Überwachung mit einem einzigen Assay empfohlen.
- **Immunoassays sind unspezifisch und kreuzreagieren mit Metaboliten. Aus diesem Grund können Immunoassays die Konzentration von Tacrolimus überbewerten (siehe Abschnitt Method „Methodenvergleich“). Wenn die Elimination von Tacrolimus beeinträchtigt ist, können die Metaboliten in einem größeren Ausmaß akkumulieren und damit zu einer höheren Überbewertung führen. In solchen Fällen sollte ein spezifisches Assay (z. B. Chromatografieverfahren) erwogen werden.**
- Die störenden heterophilen Antikörper treten in der Bevölkerung nur selten auf. Diese Antikörper können die Ergebnisse verfälschen (einschließlich fälschlicherweise niedriger Ergebnisse aufgrund der Autoagglutination des Mikropartikel-Reagens).

- Die Testergebnisse sollten stets in Verbindung mit der Patientenanamnese, den klinischen Untersuchungen und anderen Befunden ausgewertet werden. Falls die Ergebnisse nicht mit den klinischen Befunden übereinstimmen, sind weitere Tests zur Bestätigung der Ergebnisse durchzuführen.
- Informationen zu den Wechselwirkungen mit anderen gleichzeitig verabreichten Arzneimitteln und zu Arzneimitteln, die die Tacrolimus-Konzentration erhöhen oder verringern können, können der PROGRAF-Packungsbeilage entnommen werden.¹⁴

ERWARTETE WERTE

Der optimale Therapiebereich für Tacrolimus in Vollblut wurde mit diesem Assay noch nicht ermittelt. Die therapeutischen Bereiche für Tacrolimus können in Abhängigkeit von den klinischen Faktoren und angewandten Verfahren variieren.

Aufgrund der unterschiedlichen klinischen Zustände der Patienten sollten Ärzte den gewünschten therapeutischen Bereich auf der Grundlage ihrer eigenen Erfahrungen sowie der klinischen Anforderungen jedes Patienten wählen. Die Tacrolimus-Werte sollten nicht als einziges Kriterium für eine Änderung des Behandlungsschemas herangezogen werden. Unterschiede in der Sensitivität gegenüber den immunsuppressiven und nephrotoxischen Wirkungen von Tacrolimus, die gleichzeitige Verabreichung von anderen Immunsuppressiva, die Art des Transplantats, die Zeitspanne seit der Transplantation und eine Reihe weiterer Faktoren bedingen unterschiedliche Zielwerte für die optimale Konzentration von Tacrolimus im Blut.

Die optimalen Bereiche unterscheiden sich je nach verwendetem Assay und sollten daher für jedes Assay festgelegt werden. Aufgrund der methodischen Unterschiede und der unterschiedlichen Kreuzreaktivität dürfen Werte, die mit verschiedenen Assays ermittelt wurden, nicht als austauschbar betrachtet werden. Zudem sollten keine Umrechnungsfaktoren angewendet werden. Für jeden Patienten sollte daher immer dasselbe Assay verwendet werden.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Im Folgenden sind repräsentative Leistungsdaten zusammengestellt, die mit einem handelsüblichen klinisch-chemischen Analysenautomaten unter Anwendung von turbidimetrischer quantitativer Analyse erzielt wurden. Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Assays unter Befolgung des hierin beschriebenen Testverfahrens mit dem Analysenautomaten Beckman AU680 durchgeführt. Die in den einzelnen Laboren erzielten Ergebnisse können sich von diesen Daten unterscheiden. Weitere Leistungsdaten für den jeweiligen Analysenautomaten sind im zugehörigen Anwendungsprotokoll zu finden. Wenn Sie Hilfe benötigen, wenden Sie sich an den technischen Support von Thermo Fisher Scientific.

Messbereich

Der Messbereich des QMS Tacrolimus-Assays reicht von 1 ng/ml (gemessener Mindestwert auf Basis der funktionalen Sensitivität) bis 30 ng/ml Tacrolimus.

Funktionale Sensitivität (Nachweisgrenze)

Die funktionale Sensitivität entspricht der niedrigsten Tacrolimus-Konzentration, die mit einer Inter-Assay-Präzision von 20 % CV gemessen werden kann. Die Untersuchung wurde mit Vollblutproben durchgeführt, die mit Tacrolimus im Bereich von 0,5 bis 5,0 ng/ml dotiert wurden. Es wurde zwei Mal täglich, 30 Tage lang, eine Messung pro Durchlauf vorgenommen, was insgesamt 60 Datenpunkte ergab. An der oberen Vertrauensgrenze von 95 % betrug die berechnete Nachweisgrenze 0,9 ng/ml und stützt damit die untere Assay-Nachweisgrenze von 1,0 ng/ml. Die prozentuale Wiederfindung bei 0,9 mg/ml lag bei 102,0 %.

Verdünnungslinearität

Zur Beurteilung der Linearität wurde eine Probe mit hoher Tacrolimus-Konzentration mit dem QMS Tacrolimus-Kalibrator A auf Konzentrationen verdünnt, die über den gesamten Assaybereich gleichmäßig verteilt waren. Die prozentuale Wiederfindung wurde durch Dividieren der gemessenen Tacrolimus-Konzentration durch die erwartete Konzentration ermittelt. Die erwarteten Konzentrationen wurden durch Multiplizieren des gemessenen Wertes der hochkonzentrierten Probe mit einem Verdünnungsfaktor berechnet.

% der hohen Probe	Erwartete Konzentration (ng/ml)	Gemessene Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)
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	–

Erwartete Konzentration = % der hohen Probe x Gemessene hohe Konzentration

Wiederfindung (%) = (Gemessene Konzentration / Erwartete Konzentration) x 100

Wiederfindung

Negative Vollblutproben wurden mit bekannten Mängen an Tacrolimus bei Konzentrationen über den gesamten Assaybereich dotiert. Die Tacrolimus-Konzentrationen in diesen Proben wurden mittels LC-MS/MS verifiziert und mit dem QMS Tacrolimus-Immunoassay getestet. Die Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt:

Proben-ID	n	Erwartete Konzentration (ng/ml)	Gemessene Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)
Probe 1	21	2,7	2,7	101,8
Probe 2	21	9,8	10,8	109,4
Probe 3	21	18,0	17,7	98,2
Probe 4	21	19,8	21,3	107,5
Probe 5	21	27,0	27,1	100,4

Wiederfindung (%) = (Gemessene Konzentration / Erwartete Konzentration) x 100

Präzision

Die Präzision wurde mit gepoolten Vollblutproben von Patienten und dotierten Proben beurteilt. Die Untersuchung wurde wie im CLSI-Protokoll EP5-A2 beschrieben durchgeführt.¹⁵ Jede Probe wurde 20 Tage lang zwei Mal täglich in zwei Replikaten pro Durchlauf getestet. Für die Standardabweichung und den prozentualen Variationskoeffizienten wurden der Mittelwert sowie die Werte innerhalb des Durchlaufs und insgesamt berechnet. Repräsentative Ergebnisse sind im Folgenden zusammengestellt:

Proben	n	Mittelwert (ng/ml)	Innerhalb des Laufs		Gesamter Lauf	
			Std. abw.	VK (%)	Std. abw.	VK (%)
Dotierte Probe A	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Dotierte Probe B	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Dotierte Probe C	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Patientenprobe A	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Patientenprobe B	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Patientenprobe C	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

Methodenvergleich

Es wurden Korrelationsstudien durchgeführt, um den QMS Tacrolimus-Immunoassay mit zwei LC-MS/MS-Methoden (System 1 und System 2) und mit dem Tacrolimus-Assay Abbott ARCHITEC[®] zu vergleichen. In den Studien wurden EDTA-Vollblutproben von Patienten mit einem Nieren-, Leber- oder Herztransplantat verwendet, die Tacrolimus erhielten. Die getesteten Proben stammten hauptsächlich von erwachsenen Patienten, bei denen seit der Transplantation in der Regel mehr als 9 Monate vergangen waren. Die Patienten erhielten entweder Tacrolimus alleine oder zusammen mit einem anderen Immunsuppressivum, hauptsächlich mit Mycophenolat-Mofetil (MMF), Mycophenolsäure (MPA) oder Kortikosteroiden. Die Ergebnisse der Deming-Regressionsanalyse¹⁶ zwischen den verschiedenen Methoden sind in der folgenden Tabelle zu sehen.

Vergleichende Methode	n	Steigung (95 % KI*)	Schnittpunkt (95 % KI)	Korrelationskoeffizient (r)
LC-MS/MS-System 1	383	1,111 (1,084 bis 1,137)	0,53 (0,31 bis 0,76)	0,972
LC-MS/MS-System 2	232	1,130 (1,092 bis 1,167)	0,71 (0,42 bis 1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT-Tacrolimus-Assay	208	1,126 (1,071 bis 1,181)	-0,03 (-0,63 bis +0,56)	0,937

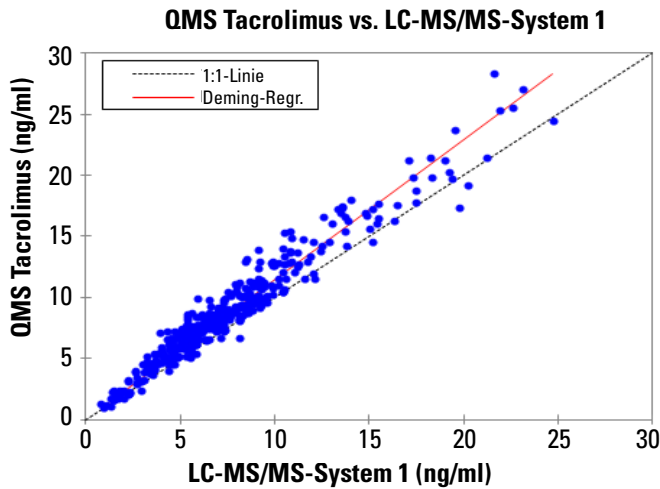
*Konfidenzintervall (KI)

Probenbereich QMS Tacrolimus: 1,0 bis 30,8 ng/ml

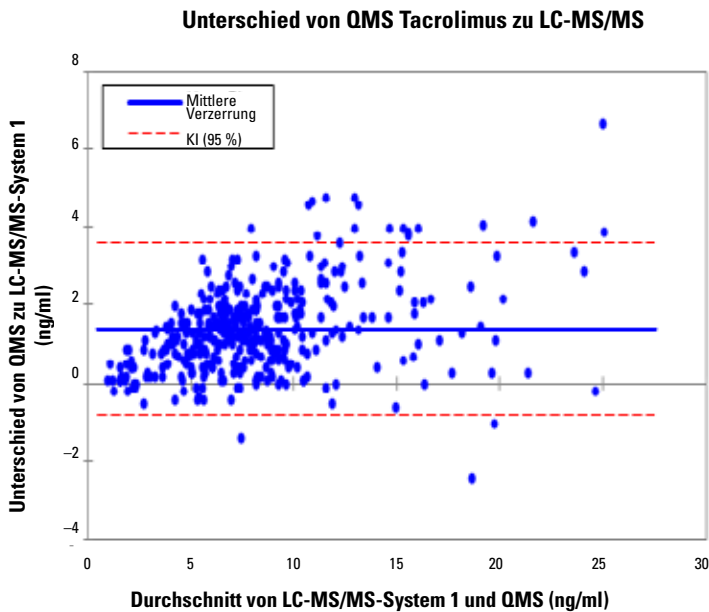
Probenbereich LC-MS/MS: 0,8 bis 29,5 ng/ml

Probenbereich ARCHITECT Tacrolimus: 2,4 bis 28,1 ng/ml

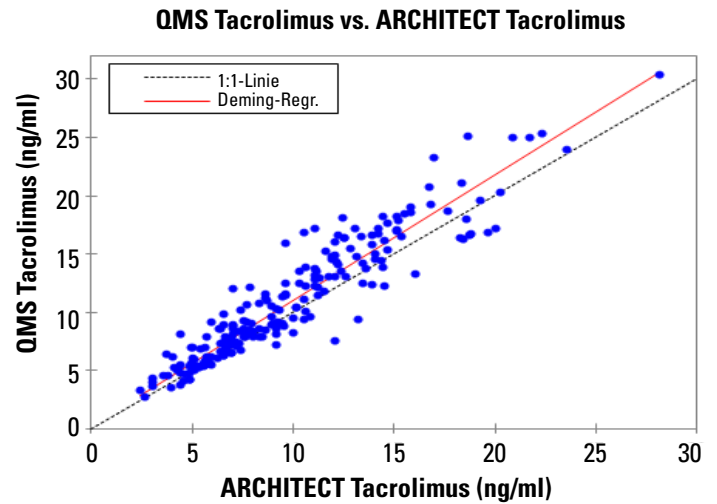
Streudiagramm der Ergebnisse des Vergleichs von QMS Tacrolimus und LC-MS/MS-System 1 bei kombinierten Proben von Patienten mit Nieren-, Leber- und Herztransplantat.



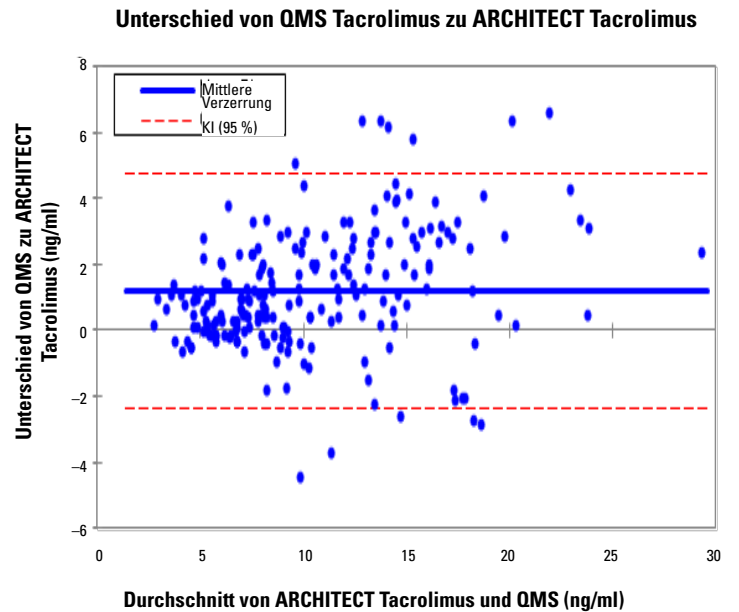
Bland-Altman-Diagramm¹⁷ der Ergebnisse des Vergleichs von QMS Tacrolimus und LC-MS/MS-System 1 bei kombinierten Proben von Patienten mit Nieren-, Leber- und Herztransplantat. Die mittlere Verzerrung wird als durchschnittliche Differenz zwischen den Ergebnissen des QMS Tacrolimus-Immunoassays und des LC-MS/MS-Systems 1 berechnet.



Streudiagramm der Ergebnisse des Vergleichs von QMS Tacrolimus und Abbott ARCHITECT Tacrolimus bei kombinierten Proben von Patienten mit Nieren- und Lebertransplantat.



Bland-Altman-Diagramm¹⁷ der Ergebnisse des Vergleichs von QMS Tacrolimus und Abbott ARCHITECT Tacrolimus bei kombinierten Proben von Patienten mit Nieren- und Lebertransplantat. Die mittlere Verzerrung wird als durchschnittliche Differenz zwischen den Ergebnissen des QMS Tacrolimus-Immunoassays und des ARCHITECT-Tacrolimus-Assays berechnet.



Spezifität

Die Spezifitätsstudien wurden gemäß dem CLSI-Protokoll EP7-A2 durchgeführt.¹⁸ Die Kreuzreaktivität wurde für die verfügbaren Hauptmetaboliten von Tacrolimus getestet. Außerdem wurden weitere Medikamente getestet, die routinemäßig zusammen mit Tacrolimus verabreicht werden, um festzustellen, ob diese Verbindungen die Quantifizierung von Tacrolimus-Konzentrationen mit dem QMS Tacrolimus-Immunoassay beeinflussen.

Die Kreuzreaktivität der Metaboliten wurde mit folgender Formel berechnet:

$$\text{Kreuzreaktivität (\%)} = \frac{\text{Gemessene Konzentration} - \text{Erwartete Konzentration}}{\text{Kreuzreaktantenkonzentration}} \times 100$$

Kreuzreaktivität mit Tacrolimus-Metaboliten

Die Kreuzreaktivität des QMS Tacrolimus-Immunoassays mit den Hauptmetaboliten von Tacrolimus wird in der folgenden Tabelle zusammengefasst. Die getesteten Verbindungen wurden in menschliche Vollblutproben gegeben, die zwei Konzentrationen des Tacrolimus-Medikaments enthalten, und in drei Replikaten getestet. Der Prozentsatz der Kreuzreaktivität wurde anschließend berechnet.

Tacrolimus-Metaboliten	Metabolitenkonzentration (ng/ml)	Erwartete Konzentration (ng/ml)	Gemessene Konzentration (ng/ml)	Wiederfindung (%)	Kreuzreaktivität (%)
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

Wiederfindung (%) = (Gemessene Konzentration / Erwartete Konzentration) x 100

Die beobachtete Kreuzreaktivität des Tacrolimus-Metaboliten M-IV betrug $\leq 174,8\%$. Die Tacrolimus-Metaboliten M-V und M-VIII wurden nicht auf mögliche Kreuzreaktivität untersucht.

Die Konzentration der Tacrolimus-Metaboliten war in den Blutproben der Patienten im Vergleich zur Muttersubstanz sehr gering. Sie betrug bei M-I 6 %, bei M-II 15 %, bei M-III 6 % und war bei M-IV nahezu nicht nachweisbar.^{9,12,19}

Störsubstanzen

Die Störsubstanzenstudien wurden gemäß dem CLSI-Protokoll EP7-A2 durchgeführt.¹⁸ Häufig zusammen mit Tacrolimus angewendete Arzneimittel sowie verschiedene gebräuchliche Arzneimittel wurden hinsichtlich Ihres Störpotenzials beim QMS Tacrolimus-Immunoassay untersucht. Die untersuchten Verbindungen wurden menschlichen Vollblutproben zugegeben, die ca. 5 und 12 ng/ml Tacrolimus enthielten, und mit dem QMS Tacrolimus-Immunoassay getestet. Ein Fehler bei der Wiederfindung der Tacrolimus-Konzentration von mehr als 10 % wurde als Störung des Arrays betrachtet. Die in der folgenden Tabelle aufgelisteten Verbindungen führten in den angegebenen Konzentrationen zu keiner Störung des Assays. Die durchschnittliche prozentuale Wiederfindung von Tacrolimus lag im Bereich von 91 bis 109 %.

Verbindung	Konzentration (ng/ml)	Verbindung	Konzentration (ng/ml)
Acetaminophen	200.000	Kanamycin B Sulfat	100.000
Acycloguanisin/Acyclovir	1.000.000	Ketoconazol	100.000
Allopurinol	50.000	Labetalol	17.100
Amikacinsulfat	150.000	Lidocain	100.000
Amphotericin B	100.000	Lithium	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	Morphinsulfat	100.000
Bromocriptin/2-Bromo- α -ergocryptine	8.000	Mycophenolsäure	100.000
Carbamazepin	120.000	N-Acetylprocainamid	120.000

Fortsetzung der Tabelle

Verbindung	Konzentration (ng/ml)	Verbindung	Konzentration (ng/ml)
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	Probuco	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	Salicylsäure	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
Hydrochlorothiazid	40.000	Trimethoprim	40.000
Hydrocortison	100.000	Valproinsäure	500.000
Ibuprofen	400.000	Vancomycin	100.000
Itraconazol	100.000	Verapamil	100.000
Kanamycin A Sulfat	100.000		

Die folgenden, potenziell störenden endogenen Substanzen führten in den angegebenen Konzentrationen beim Test mit dem QMS Tacrolimus-Immunoassay zu einer Wiederfindung von 92 bis 108 %.

Potenzielle Störsubstanz	Konzentration
Albumin	12 g/dl
Bilirubin	60 mg/dl
Cholesterin	500 mg/dl
Kreatinin	5 mg/dl
Triglycerid	15.00 mg/dl
Harnsäure	20 mg/dl
IgG Gammaglobulin	12 g/dl
Rheumafaktor	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hämatokrit	12 – 64 %

*HAMA = Humane Anti-Maus-Antikörper

LITERATUR

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® [Packungsbeilage]. 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.

Glossar:

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



Hersteller:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Gebührenfrei in den USA: 800-626-0690



Bevollmächtigter in der EU:
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Kundenservice

Gebührenfrei in den USA: 1-800-232-3342
Weitere Länder: Bitte wenden Sie sich an die Vertretung von Thermo Fisher Scientific in Ihrer Region.

Bio-Rad Lyphocheck® ist eine eingetragene Marke von Bio-Rad®.
MORE Diagnostics-Kontrollen sind Eigentum von MORE Diagnostics Inc.
ARCHITECT ist eine eingetragene Marke der Abbott Laboratories®.
Alle anderen Marken sind Eigentum von Thermo Fisher Scientific Inc. und ihren Tochtergesellschaften.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten.



Aktualisierungen der Packungsbeilage finden Sie unter:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-12-DE
2021 01

thermo
scientific