

Rx Only

REF 10015556

Vain *in vitro* -diagnostiseen käyttöön

Tämä Quantitative Microsphere System (QMS) -järjestelmän tuoteseloste on luettava huolellisesti ennen käyttöä. Tuoteselosteen ohjeita on noudatettava. Analyysitulosten luotettavuutta ei voida taata, jos tämän tuoteselosteen ohjeista poiketaan.

KÄYTTÖTARKOITUS

QMS-takrolimuusi-immunomääritys on tarkoitettu takrolimuusin kvantitatiiviseen määrittämiseen ihmisen kokoverestä kliinisen kemian automaattisissa analysaattoreissa. Saatuja tuloksia käytetään apuna takrolimuusihoitoa saavien munuais-, maksa- ja sydänsiirtopotilaiden hoidon hallinnassa. Tämä *in vitro* -diagnostinen laite on tarkoitettu käytettäväksi vain kliinisessä laboratoriossa.

YHTEENVETO JA TESTIN SELITYS

Takrolimuusi (FK506, PROGRAF[®]) on *Streptomyces tsukubaensis* -sienestä peräisin oleva makrolidiantibiootti, jolla on voimakas immunosuppressiovaikutus. Lääkettä määrätään munuais- ja maksasiirtopotilaille.¹ Takrolimuusi on kalsineuriinin estäjä, joka on luonteeltaan fosfataasi ja joka aktivoi T-solujen proliferaatiota.²⁻⁴ Solutapahtumissa takrolimuusi sitoutuu FKBP:eiiksi nimitettyihin sitoutumisproteiineihin (FK506-sitoutumisproteiini) ja muodostaa sitten pentameerikompleksin, joka sisältää takrolimuusin, FKBP:n, kalsineuriinin A ja B sekä kalmoduliinin.²⁻⁵ Pentameerirakenne aiheuttaa kalsineuriinin fosfataasiaktiiviteetin inhibition, jota tarvitaan transkriptiotekijöiden aktivoimiseen solun tumaan kuljetusta varten. Siten T-lymfosyyttien geenien ilmentyminen heikkenee erityisesti sytokiineissa, kuten IL-2:ssa, ja aiheuttaa immunosuppressiovaikutuksen potilaille.²⁻⁵

Takrolimuusin jakautuminen kokovereen ja plasman riippuu useista tekijöistä, kuten hematokriittiarvosta, lääkkeitöisyydestä ja plasmaproteiinipitoisuudesta. Kokoveren ja plasman pitoisuuksien suhde oli keskimäärin 35 (vaihteluväli 12–67).⁶⁻⁷ Takrolimuusi metaboloituu laajasti sytokromi P-450 -järjestelmän kautta, pääasiassa CYP3A-entsyymien avulla.⁸⁻¹¹ Lääke metaboloituu ainakin 8 metaboliitiksi (M-I–M-VIII) demetylaatiolla ja hydroksylaatiolla.¹² Takrolimuusin keskimääräinen puoliintumisaika *in vivo* on arviolta 48 tuntia.⁸⁻¹¹ Raporttien mukaan myös takrolimuusin kokoveripitoisuuksien potilasokhtainen ja potilaiden välinen vaihtelu oli suurta.¹³ Huolellista ja usein toistuvaa takrolimuusin seuranta suositellaan.¹⁴

MENETELMÄN PERIAATTEET

QMS-takrolimuusi-immunomääritys on homogeeninen hiukkasilla tehostettu turbidimetrinen immunomääritys. Määritys perustuu näytteessä olevan lääkkeen ja mikrohiukkasen päällysteenä olevan lääkkeen kilpailuun takrolimuusin vasta-ainereagenssin vasta-aineita sitovista kohdista. Takrolimuusilla päällystetty mikrohiukkasereagenssi agglutinoituu nopeasti antitakrolimuusin vasta-ainereagenssin läsnä ollessa ja kun näytteessä ei ole toista kilpailevaa lääkettä. Absorbanssin muutosnopeus mitataan fotometrisesti 700 nm:ssä. Kun takrolimuusia sisältävä näyte lisätään, agglutinaatioreaktio estyy osittain ja absorboitumisnopeus hidastuu. Pitoisuuden mukaan määrytyvä perinteinen agglutinaation estökäyrä saavutetaan, kun agglutinaationopeus on suurimmillaan ja takrolimuusipitoisuus pienimmillään tai kun agglutinaationopeus on pienimmillään ja takrolimuusipitoisuus suurimmillaan.

REAGENSIT

QMS-takrolimuusi, **REF**10015556, toimitetaan nestemäisenä ja käyttövalmiina kolmen reagenssin pakkauksessa, jonka sisältö on seuraava:

REAGENT 1 1 x 18 ml

REAGENT 2 1 x 12 ml

EXT Uuttoreagenssi 1 x 50 ml (työliuos vaadittu, katso s. 2, Uuttoliuksen valmisteleminen)

Reaktiiviset ainesosat

INGRED	Aineosa	Pitoisuus
REAGENT 1	Antitakrolimuusin monoklonaalinen vasta-aine (jänis) Natriumatsidi	<1,0 % 0,09 %
REAGENT 2	Takrolimuusilla päällystetyt mikrohiukkaset Natriumatsidi	<0,3 % 0,09 %
EXT	Natriumatsidi	0,09 %

REAGENSIN KÄSITTELEMINEN JA SÄILYTTÄMINEN

- REAGENT 1**, **REAGENT 2** ja **EXT** (uuttoreagenssi) käyttövalmiina
- Estä ennen käyttöä kuplien muodostuminen kääntämällä reagenssia useita kertoja ylösalaisin.
- Poista mahdolliset ilmakuplat reagenssikasetaista. Vaihtoehtoisesti voit antaa reagenssin olla paikoillaan oikeassa säilytyslämpötilassa, jotta kuplat hajoavat. Älä käytä kuplien poistamiseen siirtopipettä, jotta reagenssin määrä pieneneisi mahdollisimman vähän.
- Kun joko **REAGENT 1**- tai **REAGENT 2**-kasetti tyhjenee, vaihda kummatkin kasetit ja varmista kalibrointi vähintään yhdellä kunkin kontrollilason näytteellä laboratoriosi laadunvalvontamääräysten mukaisesti. Jos kontrollin tulokset eivät ole hyväksytyjen rajojen sisäpuolella, kalibrointi on ehkä tehtävä uudelleen.
- Katso analysaattori-ohjeista määritysjärjestelmän parametritiedoista järjestelmäkohtaista tietoa.
- Jos materiaalia roiskuu, tee puhdistus ja materiaalin poisto laboratoriosi vakiokäytäntöjen sekä paikallisten ja kansallisten säädösten mukaisesti.
- Jos pakkaus on saapuessaan vaurioitunut, ota yhteyttä teknisen tuen edustajaan (katso tämän pakkausselosteen takasivu).

⚠ HUOMIO: Reagenssikuplat voivat häiritä kasetin reagenssimäärän tunnistusta. Tämä voi aiheuttaa sen, ettei järjestelmä ime reagenssia riittävästi, mikä taas vaikuttaa tuloksiin. ^{20°C} Avaamattomat reagenssit ovat stabiileja pakkauksessa mainittuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun niitä säilytetään 2–8 °C:n lämpötilassa.

Reagensseja ei saa jäädyttää tai altistaa yli 32 °C:n lämpötiloille.

VAROITUKSET JA VAROTOIMET

- Vain *in vitro* -diagnostiseen käyttöön. Noudata normaaleja varotoimia, joita tarvitaan kaikkien laboratorioreagenssin käsittelyssä.
- Eri eristä peräisin olevia materiaaleja ei saa sekoittaa keskenään.
- Reagenssipakkauksia ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.

VAARA: QMS-takrolimuusi-immunomääritys sisältää ≤3,0 prosenttia ihmisen seerumin albumiinia (HSA) ja ≤1,0 prosenttia lääkepesifistä vasta-ainetta (kaniini). QMS-takrolimuusi-uuttoreagenssi sisältää ≤9,0 prosenttia sinkkisulfaattia (ZnSO₄). H317 - Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. H334 - Voi aiheuttaa allergisia tai astmaattisia oireita tai hengitysvaikeuksia sisäänhengitettynä. H318 - Aiheuttaa vakavia silmävaurioita. H411 - Myrkyllistä vesieläimille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

Vältettävä sumun tai höyryn hengittämistä. Kontaminoituneita työvaatteita ei saa viedä pois työpaikalta. Käytä suojakäsineitä/suojalaseja/kasvosuojusta. Mikäli tuuletus on riittämätöntä, käytä hengityssuojainta. Jos ainetta pääsee iholle: pese runsaalla saippualla ja vedellä. **SISÄÄNHENGITETTYNÄ:** jos hengittäminen on vaikeaa, poista uhrin raittiiseen ilmaan ja pidä hänet levossa asennossa, jossa hän voi hengittää mukavasti. Jos ihoärsytystä tai ihottumaa ilmenee: hakeudu lääkäriin. Jos ilmenee hengitysoireita: soita MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkärille. Kontaminoituneet vaatteet on pestävä ennen uudelleenkäyttöä. Sisältö/säiliö on hävitettävä paikan päällä paikallisten/alueellisten/kansallisten/kansainvälisten säädösten mukaisesti.

Vältettävä päästämistä ympäristöön. Käytä suojakäsineitä/suojalaseja/kasvosuojusta. JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. Soita välittömästi myrkytystietokeskukseen tai lääkärille. Kerää läikkyneet materiaali. Sisältö/säiliö on hävitettävä paikan päällä paikallisten/alueellisten/kansallisten/kansainvälisten säädösten mukaisesti.

⚠ HUOMIO: Ihmisperäiset materiaalit testattiin HIV1- ja HIV2-viruksen, hepatiitti B:n ja hepatiitti C:n varalta FDA:n hyväksymällä menetelmällä, ja löydökset olivat negatiiviset. Koska mikään testimenetelmä ei kuitenkaan voi sulkea pois mahdollista infektiotaaraa absoluuttisen varmasti, materiaalia on käsiteltävä yhtä huolellisesti kuin potilasnäytettä. Altistustapauksessa on noudatettava vastuullisten terveydenhoitoviranomaisten ohjeita.

Määrityskomponenteissa käytetyt reagenssit sisältävät ≤0,09 % natriumatsidia. Iho- ja limakalvoskosketusta on vältettävä. Katso käyttöturvallisuustiedotteesta lisävarotoimiin, käsittelyohjeisiin ja tapaturmaisen altistuksen hoitoon liittyvää tietoa.

NÄYTTEEN KERÄÄMINEN JA KÄSITTELY

- Vain EDTA-putkiin kerättyjä kokoverinäytteitä saa käyttää. Noudata kaikkien näyteputkien valmistajien antamia käsittelyohjeita. Näytteet on säilytettävä huolellisesti koskemattomina keräyshetkestä määrittämisen suorittamiseen. Näytteisiin on merkittävä sekä ottoaika että viimeksi annettun lääkeannoksen aika.
- Näytteisiin on pantava korkit ja niistä on tehtävä määrittäminen 7 päivän sisällä, kun niitä säilytetään 2–8 °C:ssa, tai 6 kuukauden sisällä, kun niitä säilytetään ≤–20 °C:ssa.^{6,10-11} Toistuvaa pakastusta ja sulatusta on vältettävä. Näytteitä ei saa vaahdottaa.

MENETELMÄ

Toimitetut materiaalit

- QMS-takrolimuusireagensisarja, [REF](#) 10015556

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät sisälly toimitukseen

- QMS-takrolimuusikalibraattorit, [REF](#) 10015573, CAL A: 1 x 4 ml, CAL B-F: 1 x 2 ml/kpl
- Laadunvalvontatuotteet
 - Suositellut materiaalit:
 - MORE Rap-/Tac-/CsA-diagnostiikkakontrolleja, ALHAINEN, 280-Q: 4 x 4 ml/kpl
 - KESKITASO, 280-1: 4 x 4 ml/kpl
 - SUURI, 280-2: 4 x 4 ml/kpl
 - Muista kaupallisesti saatavilla olevista laadunvalvontatuotteista voit tiedustella Thermo Fisher Scientificin tekniseltä tuelta
- Metanoli, HPLC-laatu (≥99,8 % puhdas)
- Pyöreäpohjaisia mikrosentrifugiputkia
- Automaattinen kliinisen kemian analysaattori

Näytteen laimentaminen

Huomautus: Noudata kontrolliliuosten tuoteselosteen ohjeita ja käsittelysuosituksia, jos sellaisia annetaan.

Anna kalibraattoreiden ja potilasnäytteiden tasaantua huoneenlämmössä ennen uuttamista. Kalibraattoreita pitäisi sekoittaa vähintään 15–20 minuuttia ja potilasnäytteet on sekoitettava perusteellisesti huoneenlämmössä ennen käyttöä. Sekoita kalibraattorit ja potilasnäytteet hyvin varovaisella kääntelyllä (käytä halutessasi keinutelinettä). Vältä kuplien muodostumista.

Uuttoliuoksen valmisteleminen

1. Lisää tasan 10 ml huoneenlämpöistä uuttoreagenssia puhtaaseen, kuivaan, ilmatiukkaan pulloon.
2. Lisää tasan 40 ml HPLC-luokkaista metanolia (≥99,8 % puhdasta) pulloon ja sekoita varovasti. Merkitse tämä "Takrolimuusin työuuttoliuos". Kirjaa etikettiin nykyinen päivämäärä ja viimeinen käyttöpäivä (kaksi viikkoa liuoksen valmistamisesta). Säilytä huoneenlämmössä.

Näytteiden, kalibraattorien ja kontrollien uuttomenetelmä

OPTIMAALISIA TULOKSIA VARTEN ON NOUDATETTAVA SEURAAVIA OHJEITA TARKASTI. UUTTEET ON KÄSITELTÄVÄ VÄLITTÖMÄSTI UUTTAMISEN JÄLKEEN.

1. Valmistele ja merkitse pyöreäpohjaiset mikrosentrifugiputket näytteiden, kalibraattorien ja kontrollien uuttamista varten. Valmistele yksi mikrosentrifugiputki kustakin näytteestä.
2. Mittaa pipetin avulla tasan 200 µl näytettä, kalibraattoria tai kontrollia merkittyyn mikrosentrifugiputkeen. Aspiroi näyte pipetillä, pyyhi pipetin kärki varovasti näyteampullin reunaan, jotta ylimääräinen näyte poistuu, ja ruiskuta näyte sitten mikrosentrifugiputken sisäseinämään. **Huomautus:** Tarkista, ettei pipetin kärkeen ole jäänyt ilmakuplia. Kärjessä oleva ilma on mahdollinen epätarkkuuden lähde.
3. Mittaa pipetillä tarkasti 200 µl uuttoliuosta mikrosentrifugiputkeen. Kun valmistele useita näytteitä, on suositeltavaa käyttää toistopipettiä uuttoliuoksen aspiroimiseen ja ruiskuttamiseen. Poista pipetin kärjessä mahdollisesti olevat ilmakuplat ennen uuttoliuoksen ruiskuttamista.
4. Aseta mikrosentrifugiputken korkki ja pyöritä sitä välittömästi enimmäisnopeudella 15–30 sekuntia. Tarkasta, että jokaisessa putkessa on homogeeninen seos. Jos havaitset sekoittumatonta näytettä, saata sekoittumaton osa irtonaiseksi putkessa ja pyöritä putkea sentrifugissa uudelleen.
5. Anna mikrosentrifugiputkessa olevan seoksen seisoa huoneenlämmössä 5–7 minuuttia.
6. Aseta mikrosentrifugiputki sentrifugiin ja sentrifugoi vähintään 5 minuuttia rpm-nopeudella, joka vastaa 15 000–16 000 x g:tä.
7. Dekantoi supernatantti näytekuppiin (vältä kuplien muodostumista) ja suorita mittaus välittömästi näytteen haihtumisen minimoimiseksi. Älä naputa kuppia viimeisen pisaran vapauttamiseksi niin, että se häiritseisi pellettä.
8. Hävitä uutteen analysoinnin jälkeen. Näytteiden uudelleentestaamiseen tarvitaan tuoret uutteen.

Huomautus: Lisävihjeitä ja suosituksia QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen näytteen uutosta on saatavilla myös Thermo Fisher Scientificin tekniseltä tuelta.

Määritysmenetelmä

Katso yksityiskohtaiset ohjeet määrityksen tekemisestä ja kalibroimisesta instrumentin omista käyttöohjeista.

Näytteen laimennusmenetelmä

QMS-takrolimuusi CAL A (0,0 ng/ml) -kalibraattorilla voit laimentaa näytteitä manuaalisesti varsinaisen määrittymisen ulkopuolella.

Manuaalinen laimennusmenetelmä

Sellaiset potilasnäytteet, joiden raportoitu takrolimuusipitoisuus on yli 30 ng/ml, voidaan laimentaa manuaalisesti tekemällä näytteestä 1:1-laimennus QMS-takrolimuusi CAL A (0,0 ng/ml) -kalibraattorilla ennen näytteen uuttamista. Laimennus on tehtävä niin, että laimennettu testitulos on korkeampi kuin määrityksen herkkyys 1 ng/ml. Raportoitu pitoisuus on kerrottava manuaalisen laimennuksen kertoimella, jotta saadaan selville näytteen lopullinen pitoisuus.

näytteen lopullinen pitoisuus = raportoitu pitoisuus x manuaalisen laimennuksen kerroin

manuaalisen laimennuksen kerroin = (näytteen tilavuus + CAL A:n tilavuus) ÷ näytteen tilavuus

KALIBROIMINEN

QMS-takrolimuusi-immunomääritys on kalibroitava täydellisellä kalibrointimenetelmällä (6-pisteinen). Suorita täysi kalibrointi testaamalla QMS-takrolimuusikalibraattorit A, B, C, D, E ja F. Vain QMS-takrolimuusikalibraattoreita tulee käyttää QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen kanssa. Takrolimuusin tarkkaa kvantitatiivista määrittystä ei voi tehdä, jos QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen kalibroinnissa ei käytetä QMS-takrolimuusikalibraattorisarjaa [REF](#) 10015573.

Jokainen uusi eränumero on kalibroitava erikseen. Varmista kalibrointikäyrä vähintään yhdellä näytteen kontrollitasolla laboratoriosi laadunvalvontamääräysten mukaisesti. Jos kontrollin tulokset eivät ole hyväksytyjen rajojen sisäpuolella, korjaa tilanne.

Kalibrointitiheys

Uudelleenkalibrointia suositellaan

- kalibraattori- tai reagenssi(pakkaus)erän vaihdon jälkeen
- kuukausittaisen laitteen kunnossapidon jälkeen
- laadunvalvontamenettelyjen vaatimusten mukaisesti.

LAADUNVALVONTA

Kaikkien laadunvalvontatoimien on noudatettava paikallisia, valtiollisia ja/tai kansallisia määräyksiä tai akkreditointivaatimuksia.

Katso tarvittaessa laboratorion toimintaohjeista ja/tai laadunvarmistussuunnitelmasta lisälaadunvalvontavaatimukset ja mahdolliset korjaustoimenpiteet.

QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen suositellut valvontavaatimukset:

- Vähintään yksi näyte kustakin kontrollitasosta on suoritettava aina, kun potilasnäytteitä uutetaan ja määritetään.
- Jos tiheämpi valvonta on tarpeen, noudata laboratoriossasi määritettyjä laadunvalvontamenetelmiä.
- Kaikkien laadunvalvontatoimien on noudatettava paikallisia, valtiollisia ja/tai kansallisia määräyksiä.
- Jos laadunvalvontatestien tulokset eivät ole laboratoriossasi määritettyjen sallittujen arvojen sisäpuolella, potilaan arvot voivat olla kyseenalaisia eikä niitä pidä raportoida. Korjaustoimiin on ryhdyttävä.

TULOKSET

QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen tulosten mittayksikkö on ng/ml.

Tulosten raportointi: Laboratorioiden on raportoitava, että tulokset on saatu QMS-takrolimuusimenetelmällä.

Tulosten virhekoodit:

Joissakin tuloksissa voi olla tulosten virhekoodeja. Katso virhekoodien kuvaukset instrumentin omasta käyttöoppaasta.

TOIMENPITEIDEN RAJOITUKSET

- Takrolimuusin pitoisuus tietyssä näytteessä, mikä on määritetty eri valmistajien määrityksillä, voi vaihdella määritysmenetelmien ja reagenssispesifisyyden erojen vuoksi. Jatkuva seuranta yhdellä määrityksellä on suositeltavaa.
- **Immunomääritykset ovat epäspesifisiä ja ristireagoivat metaboliittien kanssa. Tämän vuoksi immunomääritykset voivat yliarvioida takrolimuusipitoisuuden (katso Menetelmän vertailu -osaa). Kun takrolimuusin eliminoituminen heikkenee, metaboliitit voivat kerääntyä suuremmissa määrin, mikä johtaa suurempaan yliarviointiin. Sellaisissa tapauksissa on harkittava spesifisen määrityksen (esim. kromatografiamenetelmän) käyttämistä.**
- Häiritseviä heterofiilisiä vasta-aineita voi ilmetä harvoin yleisväestössä. Nämä vasta-aineet voivat aiheuttaa virheellisiä tuloksia (mikä tuottaa virheellisesti mikrohiukkasreagenssin agglutinaation aiheuttamia alhaisia tuloksia).
- Testin löydöksiä on aina arvioitava yhdessä potilaan potilaskertomuksen, kliinisten tutkimusten ja muiden löydösten kanssa. Tulosten varmistamiseksi on suoritettava lisätestejä, jos tulokset eivät ole yhdenmukaisia kliinisten todisteiden kanssa.

- Katso PROGRAF-pakkaukseloitteesta samaan aikaan käytettävien lääkkeiden sekä takrolimuusipitoisuuksia suurentavien tai pienentävien lääkkeiden vaikutukset.¹⁴

ODOTETUT ARVOT

Takrolimuusin optimaalista terapeuttista vaihteluväliä kokoveressä ei ole määritetty tämän määrittämisen avulla. Takrolimuusin terapeuttiset vaihteluvälit voivat vaihdella kliinisten tekijöiden ja käytetyn metodologian mukaan.

Ottaen huomioon potilaan kliinisen tilan heterogeenisuus, hoitohenkilöstön on määritettävä haluttu terapeuttinen hoidon vaihteluväli oman kokemuksensa sekä potilaan kliinisten vaatimusten perusteella. Hoito-ohjelman muutosten ei pidä perustua pelkästään takrolimuusivoihin. Erot herkkyydessä takrolimuusin immunosuppressiivisille ja nefrotoksille vaikutuksille, muiden immunosuppressanttien käyttäminen samanaikaisesti, siirteen tyyppi, siirteen asettamisesta kulunut aika sekä monet muut tekijät vaikuttavat takrolimuusin optimaalisten veripitoisuuksien erilaisiin vaatimuksiin.

Optimaaliset vaihteluvälit vaihtelevat käytetyn testin mukaan, ja siksi ne on määritettävä erikseen jokaista kaupallista testiä varten. Erilaisilla määrittämismenetelmillä saatuja arvoja ei voida vaihdella keskenään metodologian välisten erojen ja ristireagoimisen vuoksi eikä tällä perusteella voida myöskään käyttää korjauskertoimia. Yhdelle potilaalle on suositeltavaa käyttää yhtä määrittämistä yhdenmukaisesti.

ERITYISET SUORITUSKYKYOINAISUUDET

Kaupallisesti saatavana olevalla kliinisen kemian automaattisella analysaattorilla, joka käyttää turbidimetristä kvantitatiivista analyysiä, saadut edustavat suorituskykytulokset on esitetty seuraavassa. Ellei muuta sanota, kaikki määrittäykset suoritettiin tässä kuvatussa määrittämismenetelmällä käyttämällä Beckman AU680 -analysaattoria. Yksittäisissä laboratorioissa saadut tulokset voivat poiketa näistä tiedoista. Lisätietoa analysaattorikohtaisesta suorituskyvystä on analysaattorikohtaisessa käyttömenettelyssä. Lisätietoja saa myös soittamalla Thermo Fisher Scientificin tekniselle tuelle.

Ilmoitettava vaihteluväli

QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen ilmoitettava vaihteluväli on 1 ng/ml (pienin ilmoitettava arvo toiminnallisen herkkyyden mukaan) – 30 ng/ml takrolimuusia.

Toiminnallinen herkkyys (kvantitointiraja)

Toiminnallinen herkkyys edustaa pienintä takrolimuusipitoisuutta, joka voidaan mitata määrittämisen välisellä tarkkuudella 20 %:n vaihtelukertoimella. Tutkimus suoritettiin käyttämällä kokoverinäytteitä, joihin oli lisätty takrolimuusia 0,5–5,0 ng/ml yhtä mittausta varten/ajo, kaksi kertaa päivässä, 30 päivän ajan, yhteensä 60 tietopisteessä. Ylemmällä 95 %:n luottamusrajalla LoQ:n laskettiin olevan 0,9 ng/ml, mikä tukee alempaa määrittämissrajaa 1,0 ng/ml. Havaittu prosentuaalinen talteenotto konsentraatioissa 09, ng/ml on 102,0 %.

Laimennuksen lineaarisuus

Lineaarisuustutkimus tehtiin laimentamalla suuren pitoisuuden takrolimuusinäytettä QMS-takrolimuusikalibraattori A:lla pitoisuuksiin, jotka jakautuivat tasaisesti määrittämissvaihteluvälillä. Talteenottoprosentti määritettiin jakamalla mitattu takrolimuusipitoisuus odotetulla pitoisuudella. Odotetut pitoisuudet määritettiin käyttämällä suurta pitoisuutta kerrottuna laimennuskertoimella.

% suuren pitoisuuden näytteestä	Odotettu pitoisuus (ng/ml)	Mitattu pitoisuus (ng/ml)	Talteenotto (%)
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	–

Odotettu pitoisuus = % suuren pitoisuuden näytteestä x suuren pitoisuuden näytteen mitattu pitoisuus
Talteenotto (%) = (mitattu pitoisuus ÷ odotettu pitoisuus) x 100

Talteenotto

Negatiivisiin kokoverinäytteisiin lisättiin tunnettu määrä takrolimuusia määrittämissvälin eri pitoisuuksilla. Näiden näytteiden takrolimuusipitoisuudet tarkistettiin LC-MS-/MS-menetelmällä ja testattiin QMS-takrolimuusi-immunomäärityksellä. Tulokset on esitetty seuraavassa.

Näytteen tunnistus	n	Odotettu pitoisuus (ng/ml)	Mitattu pitoisuus (ng/ml)	Talteenotto (%)
Näyte 1	21	2,7	2,7	101,8
Näyte 2	21	9,8	10,8	109,4
Näyte 3	21	18,0	17,7	98,2
Näyte 4	21	19,8	21,3	107,5
Näyte 5	21	27,0	27,1	100,4

Talteenotto (%) = (mitattu pitoisuus ÷ odotettu pitoisuus) x 100

Toistettavuus

Tarkkuus arvioitiin käyttämällä yhdistettyjä potilas- ja lisättyjä kokoverinäytteitä. Tutkimus suoritettiin CLSI-menetelty EP5-A2 kuvauksen mukaisesti.¹⁵ Jokainen näyte määritettiin kaksittain ajoa kohti kaksi kertaa päivässä 20 päivän ajan. Keskiarvo, sarjan sisäinen ja kokonaisarjan SD ja CV-% laskettiin. Edustavat tulokset on esitetty seuraavassa.

Näytteet	n	Keskiarvo (ng/ml)	Ajon sisäinen		Koko ajo	
			SD	%CV	SD	%CV
Lisätty näyte A	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Lisätty näyte B	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Lisätty näyte C	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Potilasnäyte A	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Potilasnäyte B	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Potilasnäyte C	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

Vertailumenetelmä

Korrelaatiotutkimuksia suoritettiin QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen vertaamiseksi kahteen LC-MS-/MS-menetelmään (järjestelmä 1 ja järjestelmä 2) ja Abbott ARCHITECT®-takrolimuusimääritykseen. Tutkimuksissa käytettiin ihmisen EDTA-kokoverinäytteitä, jotka oli otettu takrolimuusia käyttävistä munuais-, maksa- ja sydänsiirtopotilaista. Kaikki testatut näytteet olivat pohjanäytteitä pääasiassa aikuispotilailta, joiden elinsiirron jälkeen oli kulunut yleensä noin >9 kuukautta. Testatut potilaat saivat lääkkeitä joko pelkästään takrolimuusia tai samanaikaisesti takrolimuusia ja immunosuppressiolääkkeitä, pääasiassa mykofenolaattimofetiilia (MMF), mykofenolihappoa (MPA) tai kortikosteroideja. Deming-regressioanalyysin tulokset¹⁶ eri menetelmistä on esitetty seuraavassa taulukossa.

Vertailumenetelmä	n	Kulmakerroin (95 %:n CI*)	Leikkauspiste (95 %:n CI)	Korrelaatiokerroin (R)
LC-MS-/MS-järjestelmä 1	383	1,111 (1,084–1,137)	0,53 (0,31–0,76)	0,972
LC-MS-/MS-järjestelmä 2	232	1,130 (1,092–1,167)	0,71 (0,42–1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT-takrolimuusimääritys	208	1,126 (1,071–1,181)	–0,03 (–0,63–0,56)	0,937

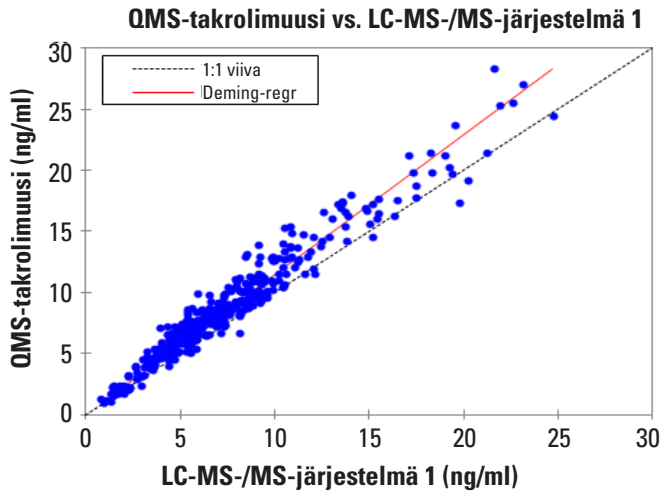
*Luottamusväli (CI)

QMS-takrolimuusinäytteen vaihteluväli: 1,0–30,8 ng/ml

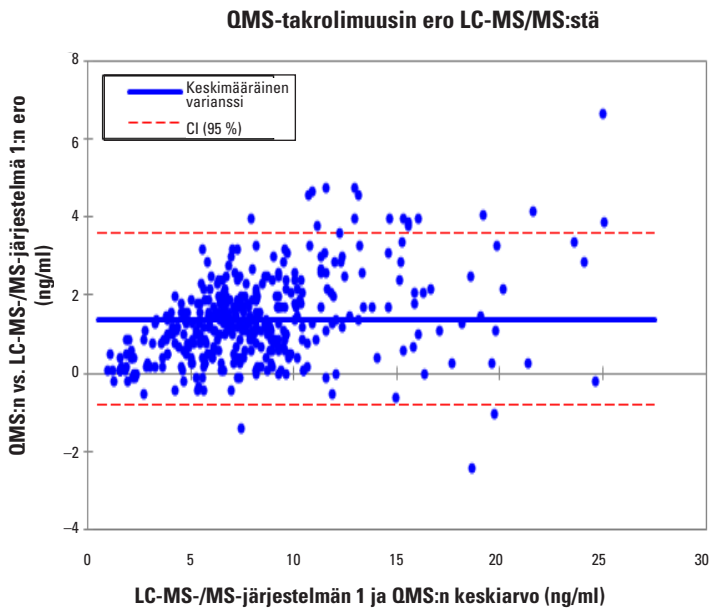
LC-MS-/MS-näytteen vaihteluväli: 0,8–29,5 ng/ml

ARCHITECT-takrolimuusinäytteen vaihteluväli: 2,4–28,1 ng/ml

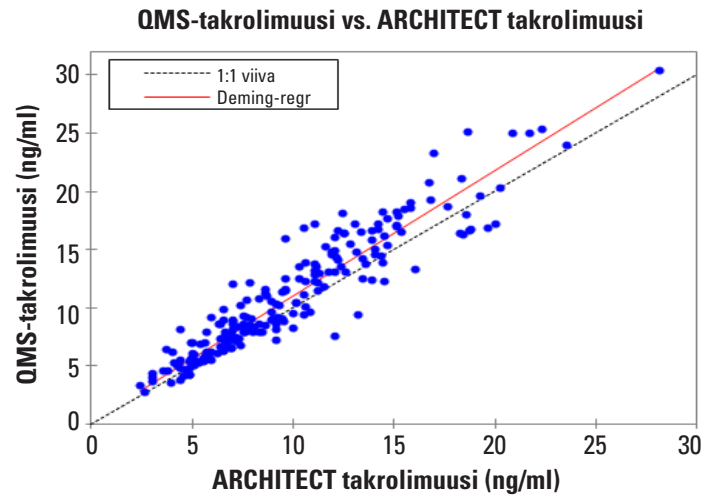
Hajakuvio QMS-takrolimuusi- vs. LC-MS-/MS-järjestelmä 1 -tuloksista yhdistetyistä munuais-, maksa- ja sydänsiirrenäytteistä.



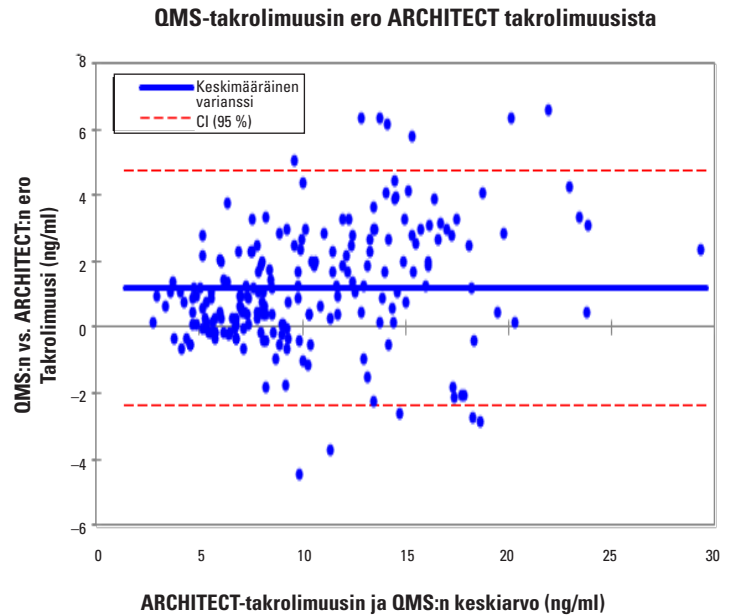
Bland ja Altmanin varianssikuvi¹⁷ QMS-takrolimuusi- vs. LC-MS-/MS-järjestelmä 1 -tuloksista yhdistetyistä munuais-, maksa- ja sydänsiirrenäytteistä. Keskimääräinen varianssi on laskettu keskimääräisenä erona QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen ja LC-MS-/MS-järjestelmän 1 tulosten välillä.



Hajakuvio QMS-takrolimuusi- vs. Abbott ARCHITECT -takrolimuusi -tuloksista yhdistetyistä munuais- ja maksasiirrenäytteistä.



Bland ja Altmanin varianssikuvi¹⁷ QMS-takrolimuusi- vs. Abbott ARCHITECT takrolimuusi -määritystuloksista yhdistetyistä munuais- ja maksasiirrenäytteistä. Keskimääräinen varianssi on laskettu keskimääräisenä erona QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen ja ARCHITECT takrolimuusi -tulosten välillä.



Spesifisyys

Spesifisyystutkimukset tehtiin käyttämällä CLSI-menetelmää EP7-A2 ohjeena.¹⁸ Ristireagoitinta testattiin saatavilla olevien takrolimuusin tärkeimpien metaboliittien osalta. Myös muut säännöllisesti takrolimuusin kanssa annettavat lääkitykset testattiin QMS-takrolimuusimääritystä käyttämällä, jotta saatiin selville, vaikuttavatko nämä yhdisteet takrolimuusin kvantitointiin.

Metaboliittien ristireaktiivisuus laskettiin käyttämällä seuraavaa kaavaa:

$$\text{Ristireaktiivisuus (\%)} = \frac{\text{mitattu pitoisuus} - \text{odotettu pitoisuus}}{\text{Ristireagoiva pitoisuus}} \times 100$$

Takrolimuusin metaboliittien ristireaktiivisuus

QMS-takrolimuusi-immunomäärityksen ristireaktiivisuus suurten takrolimuusi-metaboliittien kanssa on esitetty seuraavassa taulukossa. Testatut yhdisteet lisättiin ihmisen kokoverinäytteisiin, joissa oli kahta pitoisuutta takrolimuusia ja jotka testattiin kolmena kappaleena. Ristireagoinnin prosenttiosuus laskettiin.

Takrolimuusimetaboliitit	Metaboliitin pitoisuus (ng/ml)	Odotettu pitoisuus (ng/ml)	Mitattu pitoisuus (ng/ml)	Talteenotto (%)	Ristireaktiivisuus (%)
M-I (13-O-demetyyli)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-demetyyli)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-demetyyli)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-hydroksi)	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-didemetyyli)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-didemetyyli) + M-VI (13,31-O-didemetyyli)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Talteenotto (%) = (mitattu pitoisuus ÷ odotettu pitoisuus) x 100

Takrolimuusin metaboliitin M-IV havaittu ristireaktiivisuus oli ≤174,8 %. Takrolimuusin metaboliitteja M-V ja M-VIII ei ole arvioitu mahdollisen ristireaktiivisuuden määrittämiseksi.

Takrolimuusin potilasnäytteet sisältävät pieniä pitoisuuksia takrolimuusimetaboliitteja verrattuna emolääkkeeseen: noin 6 % M-I:tä, 15 % M-II:tä, 6 % M-III:tä ja lähes havaitsemattoman määrän M-IV:tä.^{9,12,19}

Häiritsevät aineet

Häiritsevien aineiden tutkimukset suoritettiin käyttämällä CLSI-menetelmää EP7-A2 ohjeena.¹⁸ QMS-takrolimuusi-immunomääritys testattiin takrolimuusin kanssa käytettävillä lääkkeillä ja yleisillä lääkkeillä, jotta voitiin havaita mahdolliset yhteisvaikutukset. Testatut yhdisteet lisättiin ihmisen kokoverinäytteisiin, joissa oli noin 5 ja 12 ng/ml takrolimuusilääkettä, ja testattiin QMS-takrolimuusi-immunomääritystä käyttämällä. Yli 10 %:n takrolimuusipitoisuuden talteenoton virheen katsottiin häiritsevän määritystä. Yhdisteet, jotka testattiin taulukossa luettuna pitoisuuksina, eivät häiritse määritystä. Takrolimuusin keskimääräinen prosentuaalinen talteenotto oli 91–109 %.

Yhdisteen	pitoisuus (ng/ml)	Yhdisteen	pitoisuus (ng/ml)
Asetaminofeeni	200 000	Kanamysiini B sulfaatti	100 000
Asykloguanisiini/asikloviiri	1 000 000	Ketokonatsoli	100 000
Allopurinoli	50 000	Labetaloli	17 100
Amikasiinisulfaatti	150 000	Lidokaiini	100 000
Amfoterisiini B	100 000	Litium	35 000
Ampisilliini	100 000	Lovastatiini	20 000
Apresoliini/hydralatsiini	100 000	Metyyliiprednisoloni	100 000
Atenololi	40 000	Metoklopramidi	100 000
Atsatiopriini	100 000	Minoksidiliini	60 000
Atsitromysiini	5 000	Morfiinisulfaatti	100 000
Bromokriptiini/2-bromo- α -ergokriptiini	8 000	Mykofenolihappo	100 000
Karbamatsepiini	120 000	N-asetyyliiprokainamidi	120 000

Taulukko jatkuu

Yhdisteen	pitoisuus (ng/ml)	Yhdisteen	pitoisuus (ng/ml)
Kefatsoliini	150 000	Nadololi	1 200
Keftriaksoni	500 000	Naprokseeni	100 000
Kefalosporiini C	100 000	Nikardipiini	500
Klopromatsiini	50 000	Nikotiini	20 000
Kloramfenikoli	250 000	Nifedipiini	100 000
Klorodiatsepoksidi	20 000	Penisilliini G	100 000
Klorokiini	1 500	Pentobarbitaali	100 000
Simetidiini	100 000	Fenobarbitaali	150 000
Siprofloksasiini	7 400	Fenytoiini	100 000
Klaritromysiini	5 000	Pratsosiini	100 000
Klonidiini	100	Prednisoloni	100 000
Kolkisiini	90	Prednisoni	100 000
Kortisoni	1 200	Primidoni	100 000
Siklosporiini / siklosporiini A	10 000	Probukoli	600 000
Diatsepaami	20 000	Prokainamidi	100 000
Digitoksiini	100 000	Propoksifeeni	4 000
Digoksiini	10 000	Propanololi	40 000
Diltiatseemi	60 000	Kinidiini	100 000
Disopyramidi	100 000	Ranitidiini	200 000
Erytromysiini	200 000	Rifampiini/rifampisiini	100 000
Etosuksimidi	300 000	Salisyylihappo	500 000
Everolimuusi	100	Sirolimuusi (rapamysiini)	300
Famotidiini	10 000	Spektinomysiini	100 000
Flukonatsoli	100 000	Streptomysiini	100 000
Flusytosiini/5-fluorosytosiini	40 000	Sulfametoksatsoli	150 000
Furosemiidi	100 000	Teofylliini	250 000
Gansikloviiri	1 000 000	Tiklopidiini	150 000
Gemfibrotsiili	100 000	Tobramysiini	100 000
Gentamysiini	120 000	Triamtereeni	100 000
Hydroklorotiatsidi	40 000	Trimetopriimi	40 000
Hydrokortisoni	100 000	Valproiinihappo	500 000
Ibuprofeeni	400 000	Vankomysiini	100 000
Itrakonatsoli	100 000	Verapamiili	100 000
Kanamysiini A sulfaatti	100 000		

Seuraavien mahdollisesti häiritsevien endogeenisten yhdisteiden, testattuna QMS-takrolimuusi-immunomäärityksellä ilmoitettuna pitoisuuksina, talteenotto oli 92–108 %.

Mahdollisesti häiritsevä aine	Pitoisuus
Albumiini	12 g/dl
Bilirubiini	60 mg/dl
Kolesteroli	500 mg/dl
Kreatiiniini	5 mg/dl
Triglyseridi	1 500 mg/dl
Virtsaehappo	20 mg/dl
IgG-gammaglobuliini	12 g/dl
Reumatekijä	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hematokriitti	12–64 %

*HAMA = ihmisen anti-hiiri vasta-aineet

LÄDEKIRJALLISUUS

1. Kino T, Hatanaka H, Miyata S, et al. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a streptomyces II. Immunosuppressive effect of FK-506 *in vitro*. *J Antibiotics* 1987; 40:1256-1265.
2. Bierer BE, Jin YJ, Fruman DA, et al. FK506 and rapamycin: molecular probes of T-lymphocyte activation. *Transplant Proc* 1991;23:2850-2855.
3. Schreiber SL. Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science* 1991;251:283-287.
4. Thomson AW, Bonham CA, and Zeevi A. Mode of action of tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit* 1995;17:584-591.
5. Griffith JP, Kim JL, Kim EE, et al. X-ray structure of calcineurin inhibited by the immunophilin-immunosuppressant FKBP12-FK506 complex. *Cell* 1995;82:507-522.
6. Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document; therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). *Ther Drug Monit* 1995;17:606-614.
7. Physicians' Desk Reference, 58th ed. Thomson PDR at Montvale, NJ. 2004; PROGRAF®: 1323-1327.
8. Lhoest GJ, Maton N, Latinne D, et al. 15-desmethyl FK-506 and 15,31-desmethyl FK-506 from human liver microsomes: isolation, identification (by fast atom bombardment mass spectrometry and NMR), and evaluation of *in vitro* immunosuppressive activity. *Clin chem.* 1994;40:740-744.
9. Gonschior AK, Christians U, Winkler M, et al. Tacrolimus (FK506) metabolite patterns in blood from liver and kidney transplant patients. *Clin Chem.* 1996;42:1426-1432.
10. Alak AM. Measurement of tacrolimus (FK506) and its metabolites: a review of assay development and application in therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. *Ther Drug Monit.* 1997;19:338-351.
11. Jusko WJ. Analysis of tacrolimus (FK506) in relation to therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit.* 1995;17:596-601.
12. Christians U, Pokaiyavanichkul T, Chan L, Tacrolimus, Applied Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Principals of Therapeutic Drug Monitoring. 4th Edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA 2005: 529-562.
13. Staatz CE, Willis C, Taylor PJ, and Tett SE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2002;72:660-669.
14. PROGRAF® [pakkauseloste]. 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.

Sanasto:

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



Valmistaja:

Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA

Yhdysvaltojen maksuton numero: 800 626 0690



Valtuutettu edustaja EU:ssa
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Asiakaspalvelu

Yhdysvaltojen maksuton numero: 1 800 232 3342

Muut maat: Ota yhteyttä paikalliseen Microgenicsin edustajaan.

Bio-Rad Lyphocheck® on Bio-Rad®-yhtiön rekisteröity tavaramerkki.
MORE-diagnostiikkakontrollit ovat MORE Diagnostics, Inc:n omaisuutta.
ARCHITECT on Abbott Laboratories®-yhtiön rekisteröity tavaramerkki.
Kaikki muut tavaramerkit ovat Thermo Fisher Scientific Inc. -yhtiön ja sen tytäryhtiöiden omaisuutta.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.



Tuoteselosteen päivitykset löytyvät osoitteesta
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-15-FI
2023 12

thermo
scientific