

Lire attentivement cette notice avant toute utilisation du Quantitative Microsphere System (QMS) et suivre rigoureusement les instructions qui y figurent. La fiabilité des résultats de dosage ne pourra être garantie en cas de non-respect des consignes d'utilisation présentées dans cette notice.

UTILISATION PRÉVUE

Le dosage immunologique QMS Tacrolimus est destiné à déterminer la quantité de tacrolimus dans le sang total humain à l'aide d'analyseurs de chimie clinique automatisés. Les résultats obtenus servent de base pour la prise en charge du traitement par tacrolimus des receveurs d'allogreffe rénale, hépatique et cardiaque. Ce dispositif de diagnostic *in vitro* est réservé à un usage en laboratoire clinique.

RÉSUMÉ ET DESCRIPTION DU TEST

Tacrolimus (FK506, PROGRAF[®]) est un antibiotique macrolide d'origine fongique, *Streptomyces tsukubaensis*, doté d'une puissante action immunosuppressive requise pour les transplantés rénaux et hépatiques.¹ Le tacrolimus est un inhibiteur de la calcineurine, une phosphatase qui active la prolifération des cellules T.²⁻⁴ Lors d'événements cellulaires, le tacrolimus fixe une famille de protéines liantes appelées FKBP (FK506 Binding Proteins), puis forme un complexe pentamérique comprenant le tacrolimus, les FKBP, les calcineurines A et B, et la calmoduline.²⁻⁵ La formation de pentamère entraîne l'inhibition de l'activité phosphatase de la calcineurine, qui est requise afin d'activer les facteurs transcriptionnels pour le transport dans le noyau cellulaire. L'expression génique des lymphocytes T est donc altérée, surtout pour les cytokines telles que IL-2, produisant chez les patients un effet immunosuppresseur.²⁻⁵

La répartition du tacrolimus entre le sang total et le plasma dépend de plusieurs facteurs, dont l'hématocrite, la concentration médicamenteuse et le taux plasmatique de protéine. Le taux de sang total par rapport à la concentration plasmatique était de 35 en moyenne (plage de 12 à 67).⁶⁻⁷ Le tacrolimus est métabolisé de façon extensive par le système cytochrome P-450, principalement CYP3A.⁸⁻¹¹ Le médicament est métabolisé en 8 métabolites (M-1 - M-8) par déméthylation et par hydroxylation.¹² La demi-vie moyenne du tacrolimus *in vivo* est estimée à 48 heures.⁸⁻¹¹ Une grande variabilité intra-patient et une variabilité inter-patients ont également été observées pour les concentrations de tacrolimus dans le sang total.¹³ Il est important de procéder à un contrôle strict et fréquent du tacrolimus.¹⁴

MÉTHODOLOGIE DU TEST

Le dosage immunologique QMS tacrolimus est un dosage immunologique et turbidimétrique homogène. Dans le dosage, le médicament de l'échantillon entre en compétition avec la substance médicamenteuse enrobant la microparticule, pour les sites de liaison de l'anticorps du réactif à base d'anticorps contre le tacrolimus. La microparticule réactive enrobée de tacrolimus s'agglutine rapidement en présence du réactif de l'anticorps anti-tacrolimus et en l'absence de tout médicament concurrent dans l'échantillon. La vitesse de changement du facteur d'absorption se mesure par photométrie à 700 nm. Lors de l'ajout d'un échantillon contenant du tacrolimus, la réaction d'agglutination est partiellement inhibée, ralentissant ainsi la vitesse de changement du facteur d'absorption. On peut obtenir une courbe d'inhibition d'agglutination classique dépendante de la concentration, avec une vitesse maximale d'agglutination pour la concentration en tacrolimus la plus basse et une vitesse minimale d'agglutination pour la concentration en tacrolimus la plus élevée.

RÉACTIFS

Kit de réactifs

Le kit QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, contient trois réactifs liquides prêts à l'emploi et comporte :

REAGENT 1 1 x 18 ml

REAGENT 2 1 x 12 ml

EXT Réactif d'extraction 1 x 50 ml (solution de travail requise, voir p. 2, Préparation de la solution d'extraction)

Ingrédients réactifs

INGRED	Ingrédient	Concentration
REAGENT 1	Anticorps monoclonaux anti-tacrolimus (lapin) Azoture de sodium	<1,0 % 0,09 %
REAGENT 2	Microparticules enrobées de tacrolimus Azoture de sodium	<0,3 % 0,09 %
EXT	Azoture de sodium	0,09 %

MANIPULATION ET STOCKAGE DES RÉACTIFS

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2**, et **EXT** (réactif d'extraction) prêts à l'emploi
- Avant toute utilisation, retourner plusieurs fois les flacons en évitant la formation de bulles.
- Le cas échéant, éliminer les bulles d'air présentes dans la cartouche du réactif. On peut également laisser reposer le réactif à la température de stockage appropriée pour permettre aux bulles de se dissiper. Afin de limiter la perte de volume, ne pas utiliser de pipette de transfert pour éliminer les bulles.

- Lorsque la cartouche du réactif **REAGENT 1** ou **REAGENT 2** est vide, remplacer les deux cartouches et vérifier l'étalonnage en procédant à la vérification d'au moins un échantillon de chaque niveau de contrôle, conformément aux procédures de contrôle qualité établies dans votre laboratoire. Si les résultats des contrôles se situent en dehors des plages acceptables, un nouvel étalonnage peut s'avérer nécessaire.
- Pour de plus amples informations sur le système, se reporter à la liste des paramètres du dosage spécifique du système pour l'analyseur.
- En cas de déversement accidentel, nettoyer et éliminer le matériel conformément à la procédure opérationnelle permanente de votre laboratoire et aux réglementations locales et nationales.
- Si le colis est endommagé lors de la réception, contacter le représentant de votre service d'assistance technique (voir la dernière page de cette notice).

⚠ ATTENTION : les bulles du réactif peuvent interférer avec la détection réelle du taux de réactif dans la cartouche, provoquant une aspiration de réactif insuffisante susceptible d'affecter les résultats.

2°C - 8°C Les réactifs non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée s'ils sont conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C.

Ne pas congeler les réactifs ni les exposer à des températures supérieures à 32 °C.

⚠ MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

- Diagnostics *in vitro* exclusivement. Respecter les précautions normales requises pour la manipulation de tous les réactifs de laboratoire.
- Ne pas mélanger de composants de différents numéros de lots de kits.
- Ne pas utiliser les kits de réactifs au-delà de leur date de péremption.

DANGER : Le dosage immunologique QMS Tacrolimus contient ≤3,0 % de sérum humain (HSA) et ≤1,0 % d'anticorps spécifiques à la drogue (lapin).

Le réactif d'extraction QMS Tacrolimus contient ≤9,0 % de sulfate de zinc (ZnSO₄).

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

H334 - Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

H318 - Provoque des lésions oculaires graves.

H411 - Toxique pour les organismes aquatiques, avec des effets à long terme.

Éviter de respirer les gaz ou vapeurs. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Lorsque la ventilation du local est insuffisante, porter un équipement de protection respiratoire. En cas de contact avec la peau : laver abondamment à l'eau et au savon. EN CAS D'INHALATION : s'il y a difficulté à respirer, transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Éliminer le contenu/contenant dans un endroit conforme aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Éviter le rejet dans l'environnement. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Au cas où la victime porterait des lentilles de contact, les enlever si les conditions le permettent. Poursuivre le rinçage. Appeler immédiatement un centre antipoison ou un médecin. Collecter la substance déversée. Éliminer le contenu/contenant dans un endroit conforme aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

⚠ ATTENTION : Les produits d'origine humaine ont fait l'objet d'un dépistage du VIH 1 et 2, de l'hépatite B et de l'hépatite C par une méthode approuvée par la FDA. Les résultats ont été négatifs. Toutefois, aucune méthode ne pouvant écarter avec une certitude absolue le risque potentiel d'infection, le produit doit être manipulé avec autant de précautions qu'un échantillon de patient. En cas de contact, respecter les directives des autorités responsables en matière de santé.

Les réactifs utilisés dans les composants du dosage contiennent ≤ 0,09 % d'azoture de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. Consulter la fiche de sécurité de produit pour les précautions supplémentaires, les instructions de manipulation et le traitement à appliquer en cas d'exposition accidentelle.

PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS

- N'utiliser que les échantillons de sang total recueillis dans des tubes EDTA. Suivre les instructions du fabricant pour tous les tubes de prélèvement. Veiller à conserver l'intégrité de l'échantillon entre le prélèvement et le dosage. Les échantillons doivent être étiquetés et l'heure de la prise de sang et de la dernière prise médicamenteuse doivent être indiquées.
- Les échantillons doivent être fermés et dosés sous 7 jours s'ils sont conservés entre 2 et 8 °C ou sous 6 mois s'ils sont stockés à une température ≤ -20 °C.^{9,10-11} Éviter les décongelations et recongelations répétées. Éviter la formation de mousse dans les échantillons.

PROCÉDURE

Matériel fourni

- Kit de réactifs QMS Tacrolimus, [REF] 10015556

Matériel requis mais non fourni

- Étalons QMS Tacrolimus, [REF] 10015573, CAL A : 1 x 4 ml, CAL B-F : 1 x 2 ml chaque
- Produits du contrôle qualité
Matériel recommandé :
 - Contrôles Diagnostics MORE Rap/Tac/CsA, BAS, 280-Q : 4 x 4 ml chaque
 - INTERMÉDIAIRE, 280-1 : 4 x 4 ml chaque
 - ÉLEVÉ, 280-2 : 4 x 4 ml chaque
- Pour d'autres produits de contrôle qualité disponibles sur le marché, contacter l'assistance technique de Thermo Fisher Scientific
- Méthanol de qualité HPLC (pureté ≥ 99,8 %)
- Tubes de micro-centrifugeuse à fond rond
- Analyseur de chimie clinique automatique

Préparation de l'échantillon

Remarque : Pour les contrôles, veuillez suivre le cas échéant, les instructions et les recommandations de manipulation dans la notice spécifique du vendeur, pour les contrôles.

Laisser les étalons et les échantillons de patients atteindre la température ambiante avant l'extraction. Mélanger les étalons pendant au minimum 15 à 20 minutes. Mélanger soigneusement les échantillons de patients à température ambiante avant toute utilisation. Bien mélanger les étalons et les échantillons de patients en les retournant doucement (vous pouvez utiliser un agitateur à bascule). Éviter la formation de bulles.

Préparation de la solution d'extraction

1. Ajouter exactement 10 ml de réactif d'extraction à température ambiante dans un flacon étanche propre et sec.
2. Ajouter exactement 40 ml de méthanol de qualité HPLC, d'une pureté supérieure ou égale à 99,8 %, au flacon et mélanger doucement. Étiqueter ce flacon en tant que « Solution d'extraction de travail Tacrolimus ». Inscrivez la date actuelle et celle de péremption (2 semaines à compter de la date de préparation) sur l'étiquette. Conserver à température ambiante.

Procédure d'extraction pour les échantillons, les étalons et les contrôles

POUR DES RÉSULTATS OPTIMAUX, SUIVRE PRÉCISÉMENT LA PROCÉDURE DÉCRITE CI-DESSOUS. LES PRÉLÈVEMENTS DOIVENT ÊTRE UTILISÉS IMMÉDIATEMENT APRÈS L'EXTRACTION.

1. Préparer et étiqueter les tubes de micro-centrifugeuse à fond rond pour l'extraction des échantillons, des étalons et des contrôles. Préparer un tube de micro-centrifugeuse pour chaque échantillon.
2. Prélever à la pipette exactement 200 µl d'échantillon, d'étalon ou de contrôle et l'introduire dans le tube de micro-centrifugeuse étiqueté. Aspirer l'échantillon à l'aide de la pipette, essuyer délicatement l'embout de la pipette sur le rebord du flacon de l'échantillon pour éliminer tout excédent, puis verser l'échantillon dans la paroi interne du tube de micro-centrifugeuse.
Remarque : Examiner l'embout de la pipette pour vérifier l'absence de bulles d'air. La présence d'air dans l'embout peut fausser les résultats.
3. Prélever à la pipette exactement 200 µl de solution d'extraction et l'introduire dans le tube de micro-centrifugeuse. Pour la préparation de plusieurs échantillons, il est recommandé de prélever et de verser la solution d'extraction à l'aide d'une pipette à répétition. Éliminer les bulles d'air de l'embout de la pipette avant de verser la solution d'extraction.
4. Fermer le tube de micro-centrifugeuse et le passer immédiatement au vortex à vitesse maximum pendant 15 à 30 secondes. Inspecter chaque tube pour un mélange homogène. Si un échantillon n'a pas été correctement mélangé, remuer doucement le tube en question et le repasser au vortex.
5. Laisser le contenu du tube de micro-centrifugeuse reposer à température ambiante pendant 5 à 7 minutes.
6. Placer le tube dans une micro-centrifugeuse et centrifuger pendant 5 minutes à 15 000 – 16 000 xg.
7. Décanter le surnageant dans une coupelle (éviter la formation de bulles) et tester immédiatement la mesure pour minimiser l'évaporation de l'échantillon. Ne pas reboucher le godet afin de ne pas perturber le culot.
8. Éliminer les prélèvements après l'analyse. Une nouvelle analyse d'échantillons nécessite de nouveaux prélèvements.

Remarque : Contacter l'assistance technique de Thermo Fisher Scientific pour une aide et des recommandations supplémentaires sur la procédure de prélèvement d'échantillons du dosage immunologique QMS Tacrolimus.

Procédure du dosage

Pour une description détaillée des méthodes d'analyse et d'étalonnage, se reporter au manuel d'utilisation spécifique à l'instrument.

Méthode de dilution des échantillons

Utiliser le CAL A (0,0 ng/ml) du kit QMS Tacrolimus pour la dilution manuelle des échantillons situés en dehors de la plage de linéarité du dosage.

Protocole de dilution manuelle

Il est possible de procéder à une dilution manuelle des échantillons de patients ayant une concentration de tacrolimus déclarée supérieure à 30 ng/ml par une dilution 1/1 de l'échantillon avec le CAL A du kit QMS Tacrolimus (0,0 ng/ml) avant l'extraction de l'échantillon. La dilution doit être effectuée de manière à ce que le résultat du dosage dilué donne des valeurs supérieures à la sensibilité de dosage de 1 ng/ml. La concentration rapportée doit être multipliée par le facteur de dilution manuelle pour obtenir la concentration finale de l'échantillon.

Concentration finale de l'échantillon = Concentration rapportée x Facteur de dilution manuelle

Facteur de dilution manuelle = (Volume de l'échantillon + Volume du CAL A) ÷ Volume de l'échantillon

ÉTALONNAGE

Le dosage immunologique QMS Tacrolimus doit être calibré à l'aide d'une procédure d'étalonnage complète (en 6 points). Pour procéder à un étalonnage complet, tester les étalons A, B, C, D, E et F du kit QMS Tacrolimus. Seuls les étalons QMS Tacrolimus doivent être utilisés pour le dosage immunologique QMS Tacrolimus. Une détermination quantitative exacte du tacrolimus ne peut pas être obtenue si le set d'étalons QMS Tacrolimus, [REF] 10015573, n'est pas utilisé pour l'étalonnage du dosage immunologique QMS Tacrolimus.

Il est nécessaire de procéder à un étalonnage de chaque nouveau numéro de lot. Vérifier la courbe d'étalonnage avec au moins un échantillon de chaque niveau de contrôle, conformément aux procédures de contrôle qualité établies dans votre laboratoire. Si les résultats des contrôles se situent en dehors des plages acceptables, il convient de prendre des mesures correctives.

Fréquence d'étalonnage

Il est recommandé de procéder à un nouvel étalonnage :

- après un changement de lot (kit) d'étalons ou de réactifs
- après avoir effectué l'entretien mensuel de l'appareil
- selon les besoins après des opérations de contrôle qualité

CONTRÔLE QUALITÉ

Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux réglementations locales, régionales et nationales, ou aux conditions d'agrément.

Le cas échéant, se reporter aux procédures opératoires standard et/ou au plan d'assurance qualité du laboratoire pour les exigences de contrôle qualité supplémentaires et autres mesures correctives à prendre éventuellement.

Exigences en matière de contrôle recommandées pour le dosage immunologique QMS Tacrolimus :

- Au moins un échantillon de chaque niveau de contrôle doit être testé à chaque prélèvement et à chaque dosage d'échantillon de patient.
- Si une surveillance plus fréquente est requise, respecter les procédures établies par votre laboratoire pour le Contrôle de la qualité.
- Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux réglementations locales, régionales et nationales.
- Si les résultats des contrôles qualité se situent en dehors de la plage acceptable définie par votre laboratoire, les valeurs du patient peuvent être suspectes et ne doivent pas être rapportées. Il convient de prendre des mesures correctives.

RÉSULTATS

Les résultats du dosage immunologique QMS Tacrolimus sont exprimés en ng/ml.

Communication des résultats : Les laboratoires doivent signaler que les résultats ont été obtenus après avoir suivi la procédure QMS Tacrolimus.

Codes d'erreur de résultat :

Certains résultats peuvent contenir des codes d'erreur de résultat. Pour une description de ces codes d'erreur, consulter le manuel d'utilisation spécifique de l'instrument.

LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

- Les concentrations de tacrolimus dans un échantillon donné, déterminées par les dosages des différents fabricants, peuvent varier en fonction de la méthodologie utilisée et des spécificités des réactifs. Il est donc recommandé de contrôler un dosage systématiquement.
- **Les dosages immunologiques ne sont pas spécifiques et présentent une réactivité croisée avec les métabolites. C'est pour cela que les dosages immunologiques peuvent surestimer la concentration de tacrolimus (voir la rubrique « Comparaison méthodologique »).** Lorsque l'élimination est diminuée, les métabolites peuvent s'accumuler, ce qui accroît cette surestimation. Dans ce cas, il convient d'envisager l'utilisation d'un autre dosage spécifique (par ex. la méthode chromatographique).
- Au sein de la population, l'apparition d'anticorps hétérophiles interférents est peu fréquente. Ces anticorps peuvent entraîner des résultats incorrects (y compris des résultats faussement bas provoqués par une auto-agglutination des microparticules réactives).

- Les résultats des tests doivent toujours être évalués par rapport aux antécédents médicaux du patient, aux examens médicaux et à d'autres résultats. Les compléments d'essai pour confirmer les résultats seront entrepris si ces derniers ne sont pas conformes aux données cliniques.
- Se reporter à la notice de PROGRAF pour consulter les effets des médicaments co-administrés et ceux qui peuvent augmenter ou diminuer les concentrations en tacrolimus.¹⁴

VALEURS ATTENDUES

La plage thérapeutique optimale pour la concentration en tacrolimus dans le sang total n'a pas été établie avec ce dosage. Les plages thérapeutiques pour la concentration en tacrolimus peuvent varier en fonction des facteurs cliniques et de la méthodologie employée.

Étant donné l'hétérogénéité de l'état clinique des patients, les cliniciens doivent établir la plage désirée de prise en charge thérapeutique en fonction de leur propre expérience ainsi que des contraintes cliniques de chaque patient. Les concentrations en tacrolimus ne doivent pas être utilisées comme seul critère pour modifier le schéma thérapeutique. La sensibilité individuelle aux effets immunosuppresseurs et néphrotoxiques du tacrolimus, l'administration concomitante d'autres immunosuppresseurs, le type de transplantation, le délai post-transplantation et d'autres facteurs encore, impliquent différentes conditions pour obtenir le taux de tacrolimus optimal dans le sang.

Les plages optimales peuvent varier en fonction du test utilisé et doivent donc être définies pour chaque test. Les valeurs obtenues par différentes méthodes de dosage ne sont pas interchangeables en raison des différentes méthodologies utilisées et de la réactivité croisée. Il convient en outre de ne pas appliquer de facteurs de correction. Il est recommandé d'utiliser systématiquement un dosage adapté à chaque patient.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES

Les résultats de performances représentatifs, obtenus sur un analyseur de chimie clinique automatique disponible dans le commerce et employant une analyse turbidimétrique quantitative, sont présentés ci-dessous. Sauf indication contraire, tous les dosages ont été réalisés conformément à la procédure de dosage indiquée dans la présente, à l'aide d'un analyseur Beckman AU680. Les résultats obtenus dans chaque laboratoire peuvent être différents. Pour davantage de données concernant les performances spécifiques de l'analyseur, se référer au mode d'emploi spécifique de l'analyseur ou appeler l'assistance technique de Thermo Fisher Scientific pour obtenir de l'aide.

Plage de données

La plage de données pour le dosage immunologique QMS Tacrolimus se situe entre 1 ng/ml (valeur minimum de déclaration basée sur la sensibilité fonctionnelle) et 30 ng/ml de tacrolimus.

Sensibilité fonctionnelle (limite de la quantification)

La sensibilité fonctionnelle représente la concentration minimale en tacrolimus qui peut être mesurée avec une précision inter-dosages de 20 % CV. L'étude a été menée en utilisant des échantillons de sang total enrichi entre 0,5 et 5,0 ng/ml de tacrolimus pour une mesure par série, deux fois par jour, pendant 30 jours avec un total de 60 points de données. À la limite de confiance supérieure de 95 %, le LoQ a été calculé comme étant de 0,9 ng/ml, soit un niveau acceptable par rapport à la limite de dosage inférieure de 1,0 ng/ml. Le pourcentage de récupération observé à 0,9 ng/ml est de 102,0 %.

Linéarité de dilution

Une étude de linéarité a été réalisée en diluant un échantillon présentant de fortes concentrations en tacrolimus avec l'étalon A QMS Tacrolimus dans des concentrations également réparties dans l'intervalle de dosage. Le pourcentage de récupération a été déterminé en divisant la concentration en tacrolimus mesurée par la concentration attendue. Les concentrations attendues ont été déterminées en multipliant les concentrations élevées analysées par un facteur de dilution.

% de l'échantillon à concentration élevée	Concentration attendue (ng/ml)	Concentration mesurée (ng/ml)	Récupération (%)
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	S/O

Concentration attendue = % de l'échantillon à concentration élevée x concentration mesurée élevée
Récupération (%) = (concentration mesurée ÷ concentration attendue) x 100

Récupération

Les échantillons de sang total négatif ont été enrichis avec des quantités connues de tacrolimus à des concentrations situées dans l'intervalle de dosage. Les concentrations en tacrolimus de ces échantillons ont été vérifiées par la méthode de dosage LC-MS/MS et testées avec le dosage immunologique QMS Tacrolimus. Les résultats sont présentés ci-dessous.

Nom de l'échantillon	n	Concentration attendue (ng/ml)	Concentration mesurée (ng/ml)	Récupération (%)
Échantillon 1	21	2,7	2,7	101,8
Échantillon 2	21	9,8	10,8	109,4
Échantillon 3	21	18,0	17,7	98,2
Échantillon 4	21	19,8	21,3	107,5
Échantillon 5	21	27,0	27,1	100,4

Récupération (%) = (concentration mesurée ÷ concentration attendue) x 100

Précision

La précision a été évaluée avec des échantillons de sang total de patients du vivier et enrichis. L'étude a été menée comme décrite dans le protocole EP5-A2 du CLSI.¹⁵ Chaque échantillon a été dosé en double par série, deux fois par jour pendant 20 jours. La moyenne, l'en cours d'analyse et la DS totale et VC (%) ont été calculés. Les résultats représentatifs sont présentés ci-dessous.

Échantillons	n	Moyenne (ng/ml)	En cours d'analyse		Totale	
			DS	VC %	DS	VC %
Échantillon enrichi A	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Échantillon enrichi B	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Échantillon enrichi C	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Échantillon patient A	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Échantillon patient B	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Échantillon patient C	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

Comparaison des méthodes

Des études de corrélation ont été menées pour comparer le dosage immunologique QMS Tacrolimus aux deux méthodes de dosage tacrolimus : LC-MS/MS (Système 1 et Système 2) et Abbott ARCHITECT®. Les études ont utilisé des échantillons de sang total humain contenant de l'EDTA et prélevés sur des transplantés rénaux, hépatiques et cardiaques prenant du tacrolimus. Tous les échantillons testés provenaient d'échantillons prélevés principalement auprès de patients adultes ayant été greffés depuis une période généralement supérieure à 9 mois. Les patients testés ont suivi un schéma thérapeutique à base de tacrolimus seul ou co-administré avec un ou plusieurs immunodépresseurs tels que le mycophénolate mofétil (MMF), l'acide mycophénolique (MPA) ou des corticostéroïdes. Les résultats de l'analyse de régression de Deming¹⁶ entre les différentes méthodes figurent dans le tableau ci-dessous.

Méthode comparative	n	Pente (95 % CI*)	Point d'intersection (95 % CI)	Coefficient de corrélation (R)
LC-MS/MS Système 1	383	1,111 (de 1,084 à 1,137)	0,53 (de 0,31 à 0,76)	0,972
LC-MS/MS Système 2	232	1,130 (de 1,092 à 1,167)	0,71 (de 0,42 à 1,01)	0,967
Dosage Abbott ARCHITECT Tacrolimus	208	1,126 (de 1,071 à 1,181)	-0,03 (de -0,63 à 0,56)	0,937

*Intervalle de confiance (CI)

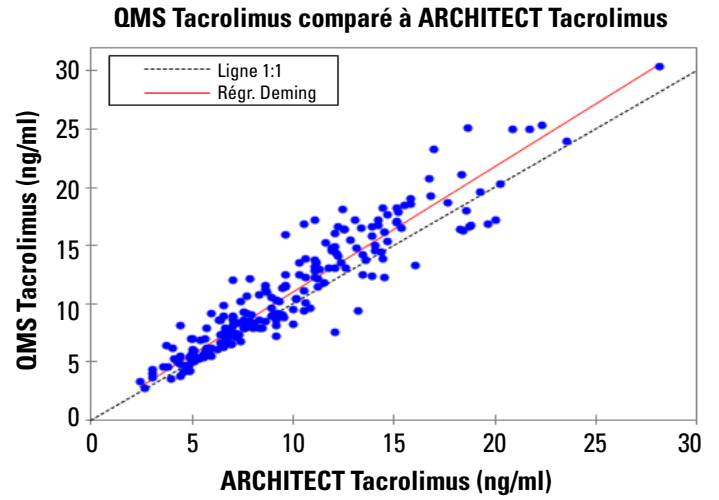
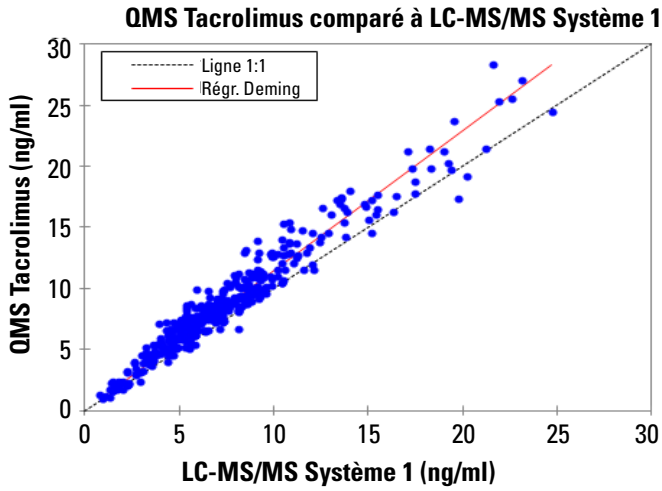
Plage de concentration de l'échantillon avec le dosage QMS Tacrolimus : de 1,0 à 30,8 ng/ml

Plage de concentration de l'échantillon avec la méthode LC-MS/MS : de 0,8 à 29,5 ng/ml

Plage de concentration de l'échantillon avec le dosage ARCHITECT Tacrolimus : de 2,4 à 28,1 ng/ml

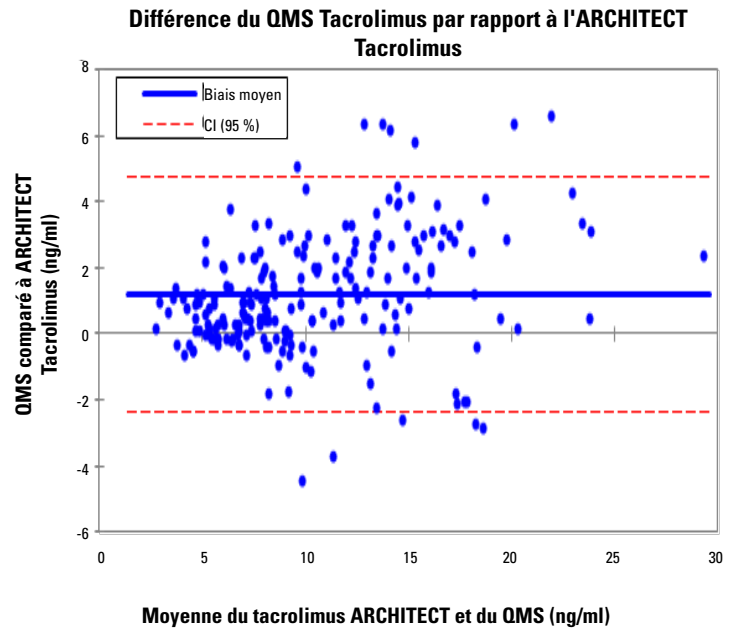
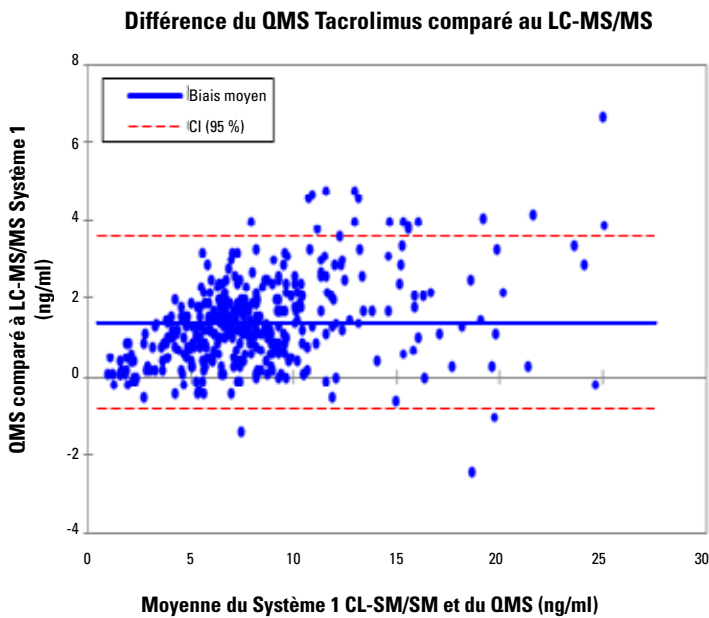
Nuage de points pour les résultats du QMS Tacrolimus et ceux du LC-MS/MS Système 1 pour les échantillons combinés d'allogreffes rénales, hépatiques et cardiaques.

Nuage de points pour les résultats du QMS Tacrolimus et ceux du Abbott ARCHITECT Tacrolimus pour les échantillons combinés d'allogreffes rénales et hépatiques.



Calcul du biais par la méthode de Bland et Altman¹⁷ pour les résultats du QMS Tacrolimus et ceux du LC-MS/MS Système 1 pour les échantillons combinés d'allogreffes rénales, hépatiques et cardiaques. Le biais moyen est défini comme la moyenne des différences arithmétiques entre les résultats de mesure avec le dosage immunologique QMS Tacrolimus et avec le LC-MS/MS Système 1.

Calcul du biais par la méthode de Bland et Altman¹⁷ pour les résultats de dosage du QMS Tacrolimus et ceux du Abbott ARCHITECT Tacrolimus, pour les échantillons combinés d'allogreffes rénales et hépatiques. Le biais moyen est défini comme la moyenne des différences arithmétiques entre les résultats de mesure avec le dosage immunologique QMS Tacrolimus et avec l'ARCHITECT Tacrolimus.



Spécificité

Les études de spécificité ont été menées en utilisant le protocole EP7-A2 recommandé par le CLSI.¹⁸ La réactivité croisée a été testée pour les principaux métabolites disponibles du tacrolimus. D'autres médicaments généralement administrés avec le tacrolimus ont également été testés avec le dosage QMS Tacrolimus pour déterminer si ces composés affectent la quantification des concentrations de tacrolimus.

La réactivité croisée des métabolites a été calculée en utilisant la formule :

$$\text{Réactivité croisée (\%)} = \frac{\text{concentration mesurée} - \text{concentration attendue}}{\text{concentration des réactifs croisés}} \times 100$$

Réactivité croisée avec les métabolites du tacrolimus

La réactivité croisée du dosage immunologique QMS Tacrolimus aux principaux métabolites du tacrolimus est présentée dans le tableau suivant. Les composés testés ont été ajoutés aux échantillons de sang total humain contenant deux concentrations de tacrolimus, et ont été analysés en réplicats de trois. Le pourcentage de réactivité croisée a été calculé.

Métabolites du tacrolimus	Concentration du métabolite (ng/ml)	Concentration attendue (ng/ml)	Concentration mesurée (ng/ml)	Récupération (%)	% de réactivité croisée
M-I (13-O-déméthyle)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-déméthyle)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-déméthyle)	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-di-déméthyle)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-di-déméthyle) + M-VI (13,31-O-di-déméthyle)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Récupération (%) = (concentration mesurée ÷ concentration attendue) x 100.

La réactivité croisée observée du métabolite du tacrolimus M-IV était ≤ 174,8 %. Les métabolites du tacrolimus M-V et M-VIII n'ont pas été évalués afin de déterminer une réactivité potentielle.

Les échantillons de patients traités avec du tacrolimus contiennent de faibles concentrations en métabolites du tacrolimus en comparaison avec la substance médicamenteuse mère, avec environ 6 % de M-I, 15 % de M-II, 6 % de M-III et un taux de M-IV presque indétectable.^{9,12,19}

Substances interférentes

Des études sur les interférences ont été menées sur la base des directives du protocole EP7-A2 du CLSI.¹⁸ Le dosage immunologique QMS Tacrolimus a été testé avec des médicaments co-administrés et des médicaments courants afin de rechercher une éventuelle interférence. Les composés testés ont été ajoutés aux échantillons de sang total contenant environ 5 et 12 ng/ml de tacrolimus et testés en utilisant le dosage immunologique QMS Tacrolimus. La récupération de concentration en tacrolimus supérieure à une erreur de 10 % a été considérée comme une interférence avec le dosage. Les composés testés avec les concentrations listées dans le tableau ci-dessous ne présentent pas d'interférence avec le dosage. Le pourcentage moyen de récupération à 0,9 ng/mL est de 102,0 %.

Composé	Concentration (ng/ml)	Composé	Concentration (ng/ml)
Acétaminophène	200 000	Kanamycine B Sulfate	100 000
Acycloguanosine / Acyclovir	1 000 000	Kétoconazole	100 000
Allopurinol	50 000	Labétalol	17 100
Amikacine Sulfate	150 000	Lidocaïne	100 000
Amphotéricine B	100 000	Lithium	35 000
Ampicilline	100 000	Lovastatine	20 000
Apresoline / Hydralazine	100 000	Méthylprednisolone	100 000
Aténolol	40 000	Métoclopramide	100 000
Azathioprine	100 000	Minoxidil	60 000
Azithromycine	5 000	Sulfate de morphine	100 000
Bromocriptine / 2-Bromo- α -ergocryptine	8 000	Acide mycophénolique	100 000
Carbamazépine	120 000	N-acétylprocaïnamide	120 000

Suite du tableau

Composé	Concentration (ng/ml)	Composé	Concentration (ng/ml)
Céfazoline	150 000	Nadolol	1 200
Ceftriaxone	500 000	Naproxène	100 000
Céphalosporine C	100 000	Nicardipine	500
Chlorpromazine	50 000	Nicotine	20 000
Chloramphénicol	250 000	Nifédipine	100 000
Chlordiazépoxyde	20 000	Pénicilline G	100 000
Chloroquine	1 500	Pentobarbital	100 000
Cimétidine	100 000	Phénobarbital	150 000
Ciprofloxacine	7 400	Phénytoïne	100 000
Clarithromycine	5 000	Prazosine	100 000
Clonidine	100	Prednisolone	100 000
Colchicine	90	Prednisone	100 000
Cortisone	1 200	Primidone	100 000
Cyclosporine / Cyclosporine A	10 000	Probucoïl	600 000
Diazépam	20 000	Procaïnamide	100 000
Digitoxine	100 000	Propoxyphène	4 000
Digoxine	10 000	Propranolol	40 000
Diltiazem	60 000	Quinidine	100 000
Disopyramide	100 000	Ranitidine	200 000
Érythromycine	200 000	Rifadine / Rifampicine	100 000
Éthosuximide	300 000	Acide salicylique	500 000
Évérolimus	100	Sirolimus (Rapamycine)	300
Famotidine	10 000	Spectinomycine	100 000
Fluconazole	100 000	Streptomycine	100 000
Flucytosine / 5-Fluorocytosine	40 000	Sulfaméthoxazole	150 000
Furosémide	100 000	Théophylline	250 000
Ganciclovir	1 000 000	Ticlopidine	150 000
Gemfibrozil	100 000	Tobramycine	100 000
Gentamicine	120 000	Triamterène	100 000
Hydrochlorothiazide	40 000	Triméthoprim	40 000
Hydrocortisol	100 000	Acide valproïque	500 000
Ibuprofène	400 000	Vancomycine	100 000
Itraconazole	100 000	Vérapamil	100 000
Kanamycine A Sulfate	100 000		

Les substances endogènes suivantes, qui peuvent provoquer une interférence lorsqu'elles sont testées avec le dosage QMS Tacrolimus aux concentrations indiquées, présentent un taux de récupération allant de 92 % à 108 %.

Substances potentiellement interférentes	Concentration
Albumine	12 g/dl
Bilirubine	60 mg/dl
Cholestérol	500 mg/dl
Créatinine	5 mg/dl
Triglycéride	1 500 mg/dl
Acide urique	20 mg/dl
IgG Gamma globuline	12 g/dl
Facteur rhumatoïde	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hématocrite	12 % - 64 %

*HAMA = anticorps humains antimurins

BIBLIOGRAPHIE

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

Glossaire :

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



Fabricant :
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Numéro gratuit aux États-Unis : 800-626-0690



EC REP

Représentant agréé dans l'U.E. :
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Customer Service (Service client)

Numéro gratuit aux États-Unis : 1-800-232-3342
Autres pays : Veuillez contacter votre représentant Microgenics local.

Bio-Rad Lyphocheck® est une marque déposée de Bio-Rad®.
Les contrôles diagnostics MORE sont la propriété de MORE Diagnostics, Inc.
ARCHITECT est une marque déposée de Abbott Laboratories®.
Toutes les autres marques de commerce sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. ou de ses filiales.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés.



Pour obtenir des mises à jour concernant cette notice, consulter le site Web :
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-12-FR
2021 01

thermo
scientific