QMS® Tacrolimus Immunoassay

thermo scientific

Rx Only

REF 10015556

Kizárólag *in vitro diagnosztikai* felhasználásra

Használat előtt figyelmesen olvassa el ezt a kvantitatív mikroszférikus rendszerhez (Quantitative Microsphere System – QMS) mellékelt tájékoztatót. Kövesse a tájékoztató utasításait. Ha nem tartják be a tájékoztatóban megfogalmazott utasításokat, nem garantálható a vizsgálati eredmények megbízhatósága.

RENDELTETÉSSZERŰ HASZNÁLAT

A QMS Tacrolimus vizsgálat a tacrolimus kvantitatív meghatározására szolgál a humán teljes vérben, automatizált klinikai kémiai analizátorokban. A kapott eredmények a tacrolimus-kezelésben részesülő, vese-, máj- és szívátültetésen átesett betegek kezeléséhez nyújtanak segítséget. Ez az *in vitro* diagnosztikai eszköz kizárólag klinikai laboratóriumban használható.

A VIZSGÁLAT ÖSSZEFOGLALÁSA ÉS MAGYARÁZATA

A Tacrolimus (FK506, PROGRAF®) egy gomba, *a Streptomyces tsukubaensis,* által termelt makrolid antibiotikum, amely erős immunszuppresszív hatással rendelkezik, és vese- és májátültetésen átesett betegeknél alkalmazzák.[1] A Tacrolimus a T-sejtek proliferációját aktiváló foszfatáz kalcineurin inhibitora.[2-4] A sejtekben a tacrolimus az FKBP elnevezésű kötőfehérjék (FK506 kötőfehérjék) csoportjához kötődik, majd egy tacrolimust, FKBP-t, kalcineurin A-t és B-t és kalmodulint tartalmazó pentamer komplexet képez.[2-5] A pentamerképződés a sejtmagba történő szállításhoz szükséges transzkripciós faktorok aktiválásához elengedhetetlen kalcineurin foszfatáz aktivitásának gátlását eredményezi. Így a T-limfociták génexpressziója csökken, különösen az IL-2 citokinek esetében, és ez immunszuppresszív hatást eredményez a betegben.[2-5]

A tacrolimus eloszlása a teljes vér és plazma között több tényezőtől, így a hematokrittól, a gyógyszer-koncentrációtól és a plazma fehérjekoncentrációjától függ. A teljes vér-plazma koncentráció aránya átlagosan 35 (tartomány: 12 - 67).[6-7] A tacrolimust jelentős mértékben a citokróm P-450 rendszer, főként a CYP3A izoenzim metabolizálja.[8-11] A gyógyszer legalább 8 metabolittá (M-I – M-VIII) alakul át demetilezés és hidroxiláció útján.[12] A tacrolimus átlagos in vivo felezési ideje a becslések szerint 48 óra.[8-11] Arról is beszámoltak, hogy a tacrolimus koncentrációja egy adott betegnél és a betegek között is jelentős változatosságot mutatott.[13] A tacrolimus gondos és alapos monitorozása javasolt.[14]

AZ ELJÁRÁS ALAPELVEI

A QMS Tacrolimus immunvizsgálat egy homogén részecskenövelt turbidimetriás immunvizsgálat. A vizsgálat alapja a mintabeli gyógyszer és a tacrolimus antitestreagens antitestmegkötő helyeinek microparticulumát bevonó gyógyszer hatásának versengése. A tacrolimusszal bevont microparticularis reagens gyorsan agglutinál az anti-tacrolimus antitestreagens jelenlétében, ha a mintában nincs vele versengő gyógyszer. Az abszorbeálás változásának sebességét fotometrikusan mérik 700 nm-en. Ha tacrolimust tartalmazó mintát adnak hozzá, az agglutinálási reakció részben gátlódik, így lelassul az abszorbeálás változási sebessége. A koncentrációfüggő klasszikus agglutinációgátlási görbe a legkisebb tacrolimus-koncentráció esetén tapasztalható legnagyobb agglutinálási sebesség és a legnagyobb tacrolimus-koncentráció esetén tapasztalható legkisebb agglutinálási sebesség segítségével kapható meg.

REAGENSEK

Reagenskészlet

A QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, felhasználásra kész folyadék kiszerelésben kapható, amely a következő három reagensből álló készletet tartalmazza:

REAGENT 1 1 x 18 mL
REAGENT 2 1 x 12 mL
EXT Kivonó reagens 1 x 50 mL (munkaoldat szükséges, lásd a 2. oldalon „A kivonó oldat előkészítése" részt)

Reaktív összetevők

INGRED	Összetevő	Koncentráció
REAGENT 1	Anti-tacrolimus monoklonális antitest (nyúl)	<1,0%
	Nátrium-azid	0,09%
REAGENT 2	Tacrolimusszal bevont microparticulumok	<0,3%
	Nátrium-azid	0,09%
EXT	Nátrium-azid	0,09%

REAGENSEK KEZELÉSE ÉS TÁROLÁSA

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2**, és **EXT** (Kivonó reagens) Használatra kész
- Használat előtt néhányszor fel kell fordítani, ügyelve arra, hogy ne keletkezzenek buborékok.
- Ha a reagenspatronban buborékok találhatók, azokat távolítsa el. Azt is megteheti, hogy a reagenst megfelelő tárolási hőmérsékleten addig pihenteti, amíg el nem oszlanak benne a buborékok. A térfogatvesztés minimalizálása érdekében ne használjon transzferpipettát a buborékok eltávolításához.
- Ha a **REAGENT 1** vagy a **REAGENT 2** esetén kiürül a patron, mindkét patront cserélje ki, és minden kontrollszintnél legalább egy mintával ellenőrizze a kalibrálást a laboratóriumában érvényes minőségellenőrzési követelményeknek megfelelően. Ha a kontrolleredmények az elfogadható tartományon kívül esnek, újrakalibrálásra lehet szükség.
- A rendszerspecifikus információkkal kapcsolatban lásd az analizátorspecifikus Assay System Parameter (Vizsgálati rendszerparaméterek) lapot.
- Véletlen kiömlés esetén az illető anyagot tisztítsa fel és távolítsa el hulladékként a laboratóriuma normál üzemeltetési eljárásainak és az országos és helyi előírásoknak megfelelően.
- Ha egy szállított anyag megérkezésekor sérült a csomagolása, vegye fel a kapcsolatot a műszaki támogatási képviselőjével (az elérhetőségeket lásd a tájékoztató végén).

⚠ **VIGYÁZAT!** A reagensbuborékok zavarhatják a patronban lévő reagens szintjének helyes érzékelését, és így az eredményeket befolyásoló elégtelen reagensleszívást okozhatnak.

2°C–8°C A 2 és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolt felbontatlan reagensek a lejárati idejükig stabilak maradnak.

A reagenseket ne fagyassza le, és óvja őket a 32 °C feletti hőmérséklettől.

⚠ FIGYELMEZTETÉSEK ÉS ÓVINTÉZKEDÉSEK

- Kizárólag *in vitro* diagnosztikai felhasználásra. Tartsa be a laboratóriumi reagensek kezelése során előírt szokásos óvintézkedéseket.
- Ne keverje össze a különböző készlet-tételszámú (sarzsszámú) anyagokat.
- A lejárati idő után ne használja a reagenskészletet.

VESZÉLY: A QMS Tacrolimus immunvizsgálati minta ≤3,0% emberi szérum-albumint (HSA) és ≤1,0% gyógyszerre jellemző antitestet (nyúl) tartalmaz.
A QMS Tacrolimus kivonó reagens ≤9,0% cink-szulfátot (ZnSO4) tartalmaz.
H317 - Allergiás bőrreakciót válthat ki.
H334 - Belélegezve allergiás vagy asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat.
H318 - Súlyos szemkárosodást okoz.
H411 - Mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz.

Kerülje a köd vagy gőzök belélegzését. Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. Védőkesztyű/szemvédő/arcvédő használata kötelező. Nem megfelelő szellőzés esetén légzésvédelem kötelező. Ha bőrre kerül: Bő szappanos vízzel le kell mosni. BELÉLEGZÉS ESETÉN: Ha a sérült légzési nehézséget mutat, az érintett személyt friss levegőre kell vinni és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. Légzési problémák esetén: forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. A szennyezett ruhát újbóli használat előtt ki kell mosni. A tartalom/edény elhelyezésének helye hulladékként: a helyi, regionális, országos és nemzetközi szabályok betartásával.

Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. Védőkesztyű/szemvédő/arcvédő használata kötelező. SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. Gyűjtse össze a kiömlött anyagot. A tartalom/edény elhelyezésének helye hulladékként: a helyi, regionális, országos és nemzetközi szabályok betartásával.

⚠ **VIGYÁZAT!** Az emberi eredetű anyagokat az FDA által jóváhagyott módszerrel vizsgálták a HIV1 és 2, hepatitisz B és hepatitisz C vírusok jelenlétére, negatív eredménnyel. Azonban, mivel nem létezik olyan vizsgálati módszer, amellyel teljes bizonyossággal kizárható a fertőzés kockázata, az anyagot ugyanolyan körültekintéssel kell kezelni, mint egy betegmintát. Expozíció esetén az illetékes egészségügyi hatóságok által kiadott irányelveket kell követni.

A vizsgálat során használt reagensek ≤0,09% nátrium-azidot tartalmaznak. Ügyeljen arra, hogy ne kerüljenek bőrre, nyálkahártyára. A további óvintézkedéseket, a kezelési utasításokat és a véletlen expozíció esetén elvégzendő intézkedéseket lásd a biztonsági adatlapon.

MINTÁK GYŰJTÉSE ÉS KEZELÉSE

- Kizárólag EDTA csövekbe levett teljes vérminták használhatók fel. Minden mintagyűjtő kémcső esetén kövesse a gyártó útmutatását. Ügyelni kell arra, hogy a minta a levétel és a vizsgálat elvégzése között épségben maradjon. A minták címkéjén fel kell tüntetni a vérvétel és az utolsó gyógyszerbeadás időpontját is.
- A mintákat kupakkal le kell zárni és 2-8°C-on tárolva 7 napon belül, ≤ -20°C-on tárolva 6 hónapon belül fel kell használni.[6,10-11] Kerülni kell az ismételt lefagyasztást és felolvasztást. Kerülni kell a minták habzását.

ELJÁRÁS

A csomagban található anyagok

- QMS Tacrolimus Reagenskészlet, REF 10015556

Szükséges, de a csomagban benne nem lévő anyagok

- QMS Tacrolimus kalibrátorok, REF 10015573, CAL A: 1 x 4 mL, CAL B-F: mindegyik 1 x 2 mL
- Minőségellenőrzési termékek

  Ajánlott anyagok:
  - MORE Diagnosztikai Rap/Tac/CsA kontrollok,
    ALACSONY, 280-Q: mindegyik 4 x 4 mL
    KÖZEPES, 280-1: mindegyik 4 x 4 mL
    MAGAS, 280-2: mindegyik 4 x 4 mL
  - A kereskedelmi forgalomban kapható minőségellenőrzési termékekről érdeklődjön a Thermo Fisher tudományos műszaki ügyfélszolgálatánál
- Metanol, HPLC minőségű (≥ 99,8%-os tisztaságú)
- Kerek aljú mikrocentrifugás kémcsövek
- Automata klinikai kémiai analizátor

A minta előkészítése

Megjegyzés: Lásd a forgalmazó által mellékelt utasításokat és kezelési javaslatokat (ha vannak ilyenek), a kontrollokra vonatkozóan.

Kivonás előtt hagyja, hogy a kalibrátorok és a betegminták szobahőmérsékletre melegedjenek. Használat előtt a kalibrátorokat minimum 15-20 percig kell keverni, a betegmintákat pedig alaposan homogenizálni kell szobahőmérsékleten. A kalibrátorokat és a betegmintákat óvatos fel-le fordítással kell összekeverni (kívánság szerint rázógép használható). Kerülje a buborékképződést.

A kivonó oldat előkészítése

1. Mérjen be pontosan 10 mL szobahőmérsékletű kivonó reagenst egy tiszta, száraz, légmentesen zárható üvegbe.
2. Mérjen be pontosan 40 mL HPLC minőségű metanolt (≥ 99,8%-os tisztaságú) az üvegbe és óvatosan keverje össze. Az üveg címkéjére írja rá "Tacrolimus kivonó munkaoldat". Jegyezze fel a készítés és a kivonás időpontját a címkére (a kivonásnak a készítéstől számított 2 héten belül kell történnie). Szobahőmérsékleten tárolja.

Kivonási eljárás mintákra, kalibrátorokra és kontrollokra

AZ OPTIMÁLIS EREDMÉNYEK ÉRDEKÉBEN PONTOSAN KÖVESSE AZ ALÁBBI LÉPÉSEKET. AZ EXTRAKTUMOKAT A KIVONÁS UTÁN AZONNAL FEL KELL HASZNÁLNI.

1. Készítse elő és címkézze fel a kerek aljú mikrocentrifugás kémcsöveket a minták, kalibrátorok és kontrollok kivonásához. Minden mintához egy mikrocentrifugás csövet készítsen elő.
2. Pipettával mérjen ki pontosan 200 µL-t a mintából, a kalibrátorból, illetve a kontrollból, és tegye a felcímkézett mikrocentrifugás kémcsőbe. Pipettával szívja fel a mintát, óvatosan törölje le a pipettacsúcsot a mintatartó injekciós üveg szélén ezzel eltávolítva a feleslegben lévő mintát, majd engedje bele a mintát a mikrocentrifugás kémcső belső falára. **Megjegyzés:** Ellenőrizze a pipettacsúcsot, hogy ne legyenek légbuborékok a csúcsban. A csúcsban lévő levegő pontatlanságot okozhat.
3. Pipetta segítségével mérjen be pontosan 200 µL kivonó oldatot a mikrocentrifugás csőbe. Több minta előkészítésekor ismétlőpipetta használata javasolt a kivonó oldat felszívásához és beméréséhez. A kivonó oldat bemérése előtt távolítsa el a légbuborékokat a pipettacsúcsból.
4. Tegyen kupakot a mikrocentrifugás kémcsőre, és azonnal vortexelje a legnagyobb fordulatszámon 15-30 másodpercig. Minden kémcsőnél ellenőrizze, hogy a keverék homogén lett-e. Ha a minta nem keveredett össze, kavarja fel az el nem keveredett részt és vortexelje újra a kémcsövet.
5. A keveréket hagyja állni a mikrocentrifugás kémcsőben szobahőmérsékleten 5-7 percig.
6. Tegye a mikrocentrifugás kémcsövet a mikrocentrifugába, és centrifugálja 5 percig 15 000–16 000 xg-nek megfelelő fordulatszámon.
7. Öntse le a felülúszót egy mintatároló edénybe (kerülje a buborékképződést) és azonnal végezze el a mérést, ezzel minimálisra csökkentve a minta párolgását. Ne ütögesse meg a tárolóedényt annak érdekében, hogy az utolsó csepp belekerüljön, mert ez felkavarhatja a pelletet.
8. Analízis után dobja ki az extraktumokat. A minták újrateszteléséhez friss extraktumokra van szükség.

Megjegyzés: A QMS Tacrolimus immunvizsgálat mintakivonási lépéseire vonatkozóan további tippek és javaslatok találhatók a Thermo Fisher tudományos műszaki ügyfélszolgálatánál.

Vizsgálati eljárás

A vizsgálat végrehajtásának és kalibrálásának részletes ismertetése a berendezésspecifikus használati útmutatóban található.

Mintahígítási eljárás

A QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/mL) kalibrátorral kézzel hígítsa fel a mintát a vizsgálat linearitásán kívülre.

Kézi hígítási protokoll

A betegtől származó minták 30 ng/mL-nél nagyobb mért tacrolimus-koncentrációra történő kézi hígításához a mintát 1:1 arányban hígítsa QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/mL) kalibrátorral a kivonási eljárás megkezdése előtt. Úgy kell hígítani, hogy a hígított teszteredmény nagyobb legyen a vizsgálat 1 ng/mL-es érzékenységénél. A mért koncentrációt meg kell szorozni a kézi hígítási tényezővel, hogy megkapjuk a minta végső koncentrációját.

A minta végső koncentrációja = Mért koncentráció x Kézi hígítási tényező

Kézi hígítási tényező = (Minta térfogata + CAL A térfogata) ÷ Minta térfogata

KALIBRÁLÁS

A QMS Tacrolimus immunvizsgálatot (6 pontos) teljes kalibrálási eljárással kell kalibrálni. A teljes kalibráláshoz tesztelje az A, B, C, D, E és F QMS Tacrolimus kalibrátorokat. A QSM Tacrolimus immunvizsgálathoz csak QMS Tacrolimus kalibrátorok és kontrollok használhatók. Nem lehetséges a tacrolimus pontos kvantitatív meghatározása, ha a QMS Tacrolimus immunvizsgálat kalibrálásához nem a REF 10015573 QMS Tacrolimus kalibrátorkészletet használják.

Minden új tételszám (sarzsszám) esetén kalibrálni kell. Minden kontrollszintnél legalább egy mintával ellenőrizze a kalibrálási görbét a laboratóriumában érvényes minőségellenőrzési követelményeknek megfelelően. Ha a kontrolleredmények az elfogadható tartományon kívül esnek, az eljárást korrigálni kell.

A kalibrálás gyakorisága

Újrakalibrálás ajánlott

- A kalibrátor vagy a reagens (készlet) tétel cseréje után
- A készülék havi karbantartásának elvégzése után
- Amikor a minőségellenőrzési eljárásoknak megfelelően szükséges

MINŐSÉGELLENŐRZÉS

Minden minőségellenőrzési követelményt a helyi, állami és/vagy kormányzati szabályozásnak, illetve akkreditációs előírásoknak megfelelően kell teljesíteni.

Laboratóriumának normál üzemeltetési eljárása(i) és/vagy minőségbiztosítási terve tartalmazza a további minőségellenőrzési követelményeket és a potenciális korrekciós intézkedéseket.

A QMS Tacrolimus immunvizsgálat ajánlott ellenőrzési követelményei:

- A betegminták kivonásakor és vizsgálatakor kontrollszintenként legalább egy mintát kell vizsgálni.
- Ha gyakoribb ellenőrzéssel kell figyelni a minőséget, kövesse a laboratóriumában alkalmazott minőségellenőrzési eljárásokat.
- Minden minőségellenőrzési követelményt a helyi, állami és/vagy szövetségi útmutatásoknak megfelelően kell teljesíteni.
- Ha a minőségellenőrzési eredmények nem a laboratóriuma által meghatározott elfogadható tartományba esnek, akkor gyanúsak lehetnek a beteg értékei, és ezek az értékek nem jelenthetők. Kijavító intézkedést kell tenni.

EREDMÉNYEK

A QMS Tacrolimus immunvizsgálat mérési eredményeinek mértékegysége ng/mL.

Az eredmények jelentése: A laboratóriumoknak jelezniük kell, hogy az eredményeket QMS Tacrolimus módszerrel kapták.

Hibakódok az eredményben:

Egyes eredmények hibakódokat tartalmazhatnak. A hibakódok leírása a berendezésspecifikus használati útmutatóban található.

AZ ELJÁRÁS KORLÁTAI

- A különböző gyártók által forgalmazott vizsgálatokkal meghatározott tacrolimus koncentrációk egy adott mintában a vizsgálati módszerek és a reagens specificitásának különbségei miatt eltérőek lehetnek. A vizsgálatokat ajánlatos következetesen ugyanazzal a módszerrel végezni.
- **Az immunvizsgálatok a metabolitokra nem specifikusak, azokkal keresztreakciót adnak. Emiatt ezzel az immunvizsgálattal túlbecsülhető a tacrolimus koncentrációja (lásd a Módszer összehasonlítása c. részt). Amikor a tacrolimus kiürülése lelassul a metabolitok nagyobb mértékben halmozódhatnak fel, ami jelentősebb túlbecsléshez vezethet. Ilyen esetekben specifikus vizsgálat (pl. kromatográfiás módszer) alkalmazása mérlegelendő.**
- A populációban kis gyakorisággal fordulnak elő interferáló heterophil antitestek. Ezek az antitestek hibás eredményekhez vezethetnek (ideértve a microparticularis reagens agglutinációja miatti hibásan alacsony értékeket is).
- A teszteredményeket mindig a beteg kórtörténetével, a klinikai vizsgálatokkal és egyéb leletekkel együtt kell vizsgálni. További vizsgálatokat kell végezni az eredmények megerősítése érdekében, amikor az eredmények nem felelnek meg a klinikai képnek.
- Az egyidejűleg alkalmazott gyógyszerek hatásaival, valamint a tacrolimus koncentrációját lehetségesen csökkentő vagy növelő gyógyszerekkel kapcsolatosan lásd a PROGRAF betegtájékoztatóját.[14]

VÁRHATÓ ÉRTÉKEK

A tacrolimus optimális terápiás tartományát teljes vérben ezzel a vizsgálattal nem határozták meg. A tacrolimus terápiás tartománya a klinikai tényezőktől és az alkalmazott módszertől függően változó lehet.

A beteg klinikai állapotának eltérősége miatt a klinikusoknak saját tapasztalataik, valamint az egyes betegek klinikai igényei alapján kell meghatározniuk a kívánt terápiás tartományt. A kezelést nem lehet pusztán a tacrolimus értékek alapján módosítani. A tacrolimus immunszuppresszív és nephrotoxicus hatására való egyéni érzékenységben megfigyelhető eltérések, az egyidejűleg alkalmazott más immunszuppresszánsok, a transzplantáció típusa, a transzplantáció óta eltelt idő, valamint számos egyéb tényező együttesen határozzák meg az tacrolimus vérbeli optimális szintjére vonatkozó különböző követelményeket.

Az optimális tartományok a használt vizsgálattól függően változnak, így ezeket minden egyes forgalmazott teszt esetén meg kell állapítani. A vizsgálati módszerek különbözősége és a metabolitokkal való kölcsönhatás miatt a különböző módszerekkel kapott értékeket nem lehet egymás helyett használni, és korrekciós tényezők sem alkalmazhatók. Az egyes betegek esetén egyetlen vizsgálat konzisztens használata javasolt.

SPECIFIKUS TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

Az alábbi szakaszok turbidimetriás kvantitatív analízist használó, kereskedelmi forgalomban kapható automatizált klinikai kémiai analizátorral kapott reprezentatív teljesítményadatokat sorolnak fel. Ha másként nincs jelezve, minden vizsgálatot az itt ismertetett vizsgálati eljárással végeztek, Beckman AU680 analizátorral. Az egyes laboratóriumban mért értékek ezektől az adatoktól eltérőek lehetnek. Az analizátor teljesítményére vonatkozó további adatokat lásd az analizátorspecifikus protokollban vagy kérjen segítséget a Thermo Fischer tudományos műszaki ügyfélszolgálatától.

Szóródási tartomány

A QMS Tacrolimus immunvizsgálat szóródási tartománya 1 ng/mL (minimális szóródási érték a funkcionális érzékenység alapján) és 30 ng/mL tacrolimus között van.

Funkcionális érzékenység (a mennyiségi meghatározás határértéke)

A funkcionális érzékenység az a legalacsonyabb tacrolimus koncentráció, amely 20% CV vizsgálaton belüli precizitással mérhető. A vizsgálatot vizsgálatonként egy méréshez 0,5-5,0 ng/mL tacrolimust tartalmazó teljes vérmintával végezték, naponta kétszer, 30 napon át, összesen 60 adatponttal. A 95%-os konfidencia-intervallum felső határánál a LoQ 0,9 ng/mL számítási eredményt adott, ami támogatja az 1,0 ng/mL-es alsó vizsgálati határt. A megfigyelt százalékos visszanyerés 0,9 ng/mL-nél 102,0%.

A hígítás linearitása

Linearitási vizsgálatot végeztek olyan módon, hogy magas tacrolimus koncentrációjú mintát a vizsgálati tartomány különböző koncentrációira hígítottak egyenletes eloszlásban, a QMS Tacrolimus A kalibrátorral. A százalékos visszanyerést úgy határozták meg, hogy a mért tacrolimus koncentrációt elosztották a várt koncentrációval. A várt koncentrációkat úgy határozták meg, hogy a vizsgálat magas koncentrációt megszorozták egy hígítási tényezővel.

Magas minta %	Várt koncentráció (ng/mL)	Mért koncentráció (ng/mL)	Visszanyerés (%)
100,0%	29,9	29,9	100,0%
90,0%	26,9	26,0	96,8%
80,0%	23,9	22,8	95,4%
70,0%	20,9	19,2	91,8%
60,0%	17,9	17,2	96,1%
50,0%	14,9	14,7	98,6%
40,0%	12,0	11,1	92,7%
30,0%	9,0	8,6	95,7%
20,0%	6,0	6,0	100,0%
10,0%	3,0	3,1	102,9%
5,0%	1,5	1,5	100,4%
3,3%	1,0	1,0	101,4%
2,8%	0,8	0,8	99,6%
0,0%	0,0	0,0	N/A

Várt koncentráció = Magas minta % x Magas mért koncentráció

Visszanyerés (%) = (Mért koncentráció ÷ Várt koncentráció) x 100

Visszanyerés

A negatív teljes vérmintákat ismert mennyiségű tacrolimusszal egészítették ki a mérési tartományon belüli koncentrációkban. E minták tacrolimus koncentrációit LC-MS/MS vizsgálattal ellenőrizték és QMS Tacrolimus immunvizsgálattal mérték. Az eredményeket az alábbi táblázat foglalja össze.

Mintaazonosító	n	Várt koncentráció (ng/mL)	Mért koncentráció (ng/mL)	Visszanyerés (%)
1. minta	21	2,7	2,7	101,8
2. minta	21	9,8	10,8	109,4
3. minta	21	18,0	17,7	98,2
4. minta	21	19,8	21,3	107,5
5. minta	21	27,0	27,1	100,4

Visszanyerés (%) = (Mért koncentráció ÷ Várt koncentráció) x 100

Precizitás

A precizitást egyesített teljes vér betegmintákkal és dúsított mintákkal végezték. A vizsgálatot az EP5-A2 CLSI protokollban leírtak szerint végezték.[15] Minden mintát vizsgálatonként két-két párhuzamosban mérték, naponta kétszer, 20 napon át. Kiszámították az átlag, a vizsgálaton belüli és a teljes szórás (SD) és % CV értékét. A reprezentatív eredményeket az alábbi táblázat foglalja össze.

Minták	n	Átlag (ng/mL)	Vizsgálaton belül		Teljes vizsgálat	
			SD	%CV	SD	%CV
Dúsított A minta	80	3,0	0,2	4,9%	0,2	7,1%
Dúsított B minta	80	10,0	0,2	1,9%	0,4	3,6%
Dúsított C minta	80	20,9	0,4	1,9%	1,1	5,0%
A betegminta	80	3,2	0,1	4,1%	0,2	6,2%
B betegminta	80	10,4	0,2	2,2%	0,4	3,6%
C betegminta	80	24,2	0,5	2,1%	1,1	4,6%

Módszerek összehasonlítása

Korrelációs vizsgálatokat végeztek a QMS Tacrolimus immunvizsgálat és két LC-MS/MS módszer (1. rendszer és 2. rendszer), valamint az Abbott ARCHITECT® Tacrolimus vizsgálat összehasonlítására. A vizsgálatokban vese-, máj- és szívátültetésen átesett, tacrolimust kapó betegektől levett humán EDTA-s teljes vér mintákat használtak. Minden vizsgált minta főként felnőttektől származó legalacsonyabb koncentrációjú minta volt (a transzplantáció után általában > 9 hónappal). A vizsgált betegek a tacrolimust monoterápiában vagy más immunszuppresszív gyógyszerekkel, főként mikofenolát-mofetillal (MMF), mikofenolsavval (MPA) kortikoszteroidokkal kombinálva kapták. A különböző módszerek közötti Deming regresszióanalízis[16] eredményei az alábbi táblázatban láthatók.

Összehasonlító módszer	n	Meredekség (95%-os KI*)	Tengelymetszési pont (95%-os KI)	Korrelációs együttható (R)
1. LC-MS/MS rendszer	383	1,111 (1,084–1,137)	0,53 (0,31–0,76)	0,972
2. LC-MS/MS rendszer	232	1,130 (1,092–1,167)	0,71 (0,42–1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT Tacrolimus vizsgálat	208	1,126 (1,071–1,181)	-0,03 (–0,63–0,56)	0,937

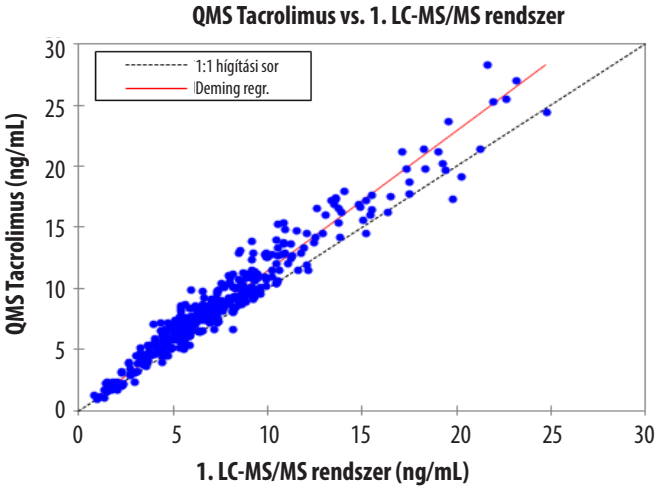
*Konfidencia-intervallum (KI)

QMS Tacrolimus minta tartománya: 1,0-30,8 ng/mL

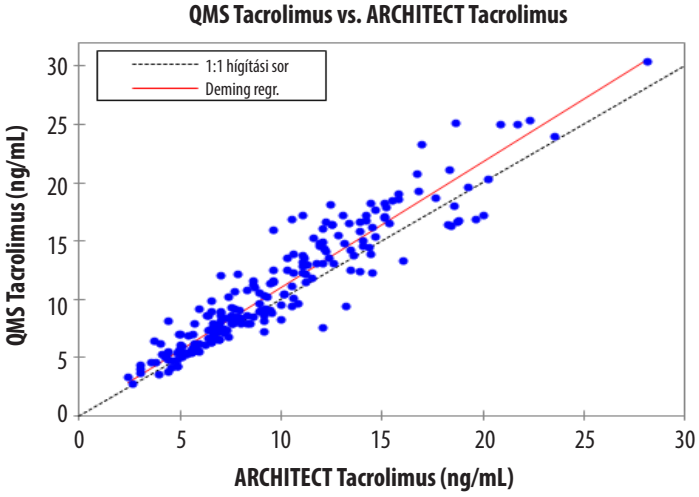
LC-MS/MS minta tartománya: 0,8-29,5 ng/mL

ARCHITECT Tacrolimus minta tartománya: 2,4-28,1 ng/mL

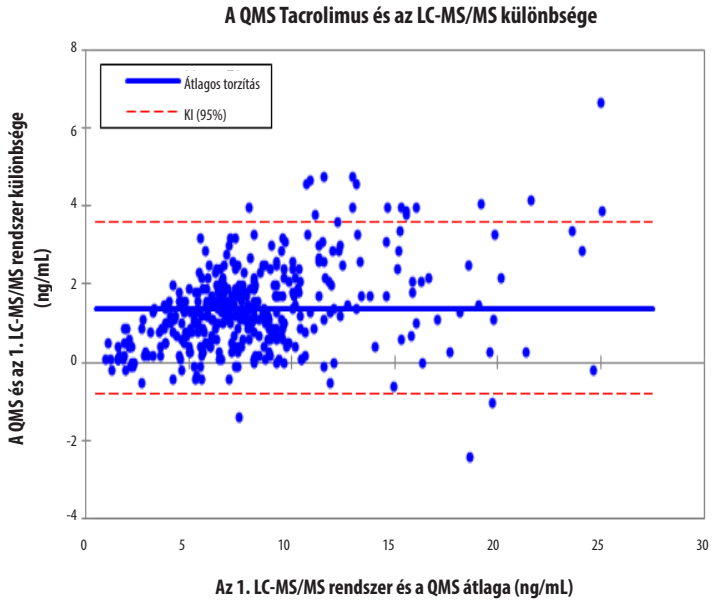
A QMS Tacrolimus, illetve az 1. LC-MS/MS rendszerrel kapott eredmények szórásdiagramja, vese-, máj- és szívátültetés után levett egyesített minták esetén.



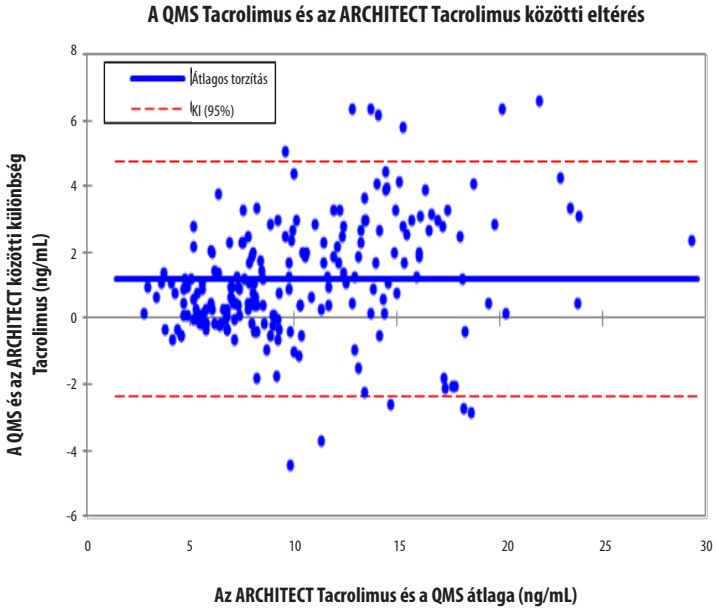
A QMS Tacrolimus, illetve az Abbott ARCHITECT Tacrolimus rendszerrel kapott eredmények szórásdiagramja, vese- és májátültetés után levett egyesített minták esetén.



A[17] QMS Tacrolimus, illetve az 1. LC-MS/MS rendszerrel kapott eredmények Bland és Altman torzítási grafikonja, vese-, máj- és szívátültetés után levett egyesített minták esetén. Az átlagos torzítás a QMS Tacrolimus immunvizsgálattal és az 1. LC-MS/MS rendszerrel kapott eredmények közötti átlagos különbségből számítható ki.



A[17] QMS Tacrolimus, illetve az Abbott ARCHITECT Tacrolimus vizsgálattal kapott eredmények Bland és Altman torzítási grafikonja, vese- és májátültetés után levett egyesített minták esetén. Az átlagos torzítás a QMS Tacrolimus immunvizsgálattal és az ARCHITECT Tacrolimus rendszerrel kapott eredmények közötti átlagos különbségből számítható ki.



Specificitás

Specificitási vizsgálatokat végeztek az EP7-A2 CLSI-protokoll útmutatásai szerint.[18] Megvizsgálták a tacrolimus rendelkezésre álló főbb metabolitjainak kölcsönhatását. A QMS Tacrolimus immunvizsgálattal a tacrolimusszal együtt rutinszerűen alkalmazott más gyógyszereket és endogén anyagokat is tesztelték, hogy megállapítsák, hogy ezek a vegyületek hatással vannak-e a tacrolimuskoncentráció kvantitatív értékére.

A metabolitok kölcsönhatását a következő képlettel számították:

$$\text{Kölcsönhatás (\%)} = \frac{\text{Mért koncentráció - Várt koncentráció}}{\text{Kölcsönható vegyület koncentrációja}} \times 100$$

Kölcsönhatás a tacrolimus metabolitokkal

A QMS Tacrolimus immunvizsgálat és a tacrolimus főbb metabolitjai kölcsönhatását az alábbi táblázat mutatja be. A vizsgált vegyületeket hozzáadták tacrolimus gyógyszert kétféle koncentrációban tartalmazó humán teljes vérmintákhoz, és ezeket három párhuzamosban mérték. Kiszámították a kölcsönhatás százalékos mértékét.

Tacrolimus-metabolitok	Metabolit-koncentráció (µg/mL)	Várt koncentráció (ng/mL)	Mért koncentráció (ng/mL)	Visszanyerés (%)	Kölcsönhatás (%)
M-I (13-O-dezmetil)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-dezmetil)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-dezmetil)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-hidroxil)	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-didezmetil)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-didezmetil) + M-VI (13,31-O-didezmetil)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Visszanyerés (%) = (Mért koncentráció ÷ Várt koncentráció) x 100

Az M-IV tacrolimus-metabolit megfigyelt kölcsönhatása ≤ 174,8% volt. Az M-V és M-VIII tacrolimus-metabolit lehetséges kölcsönhatását nem vizsgálták.

A tacrolimus betegminták alacsony koncentrációban tartalmaznak tacrolimus-metabolitokat az anyagvegyülethez képest: M-I 6%, M-II 15%, M-III 6%, M-IV közel kimutathatatlan.[9,12,19]

Interferáló anyagok

Interferenciavizsgálatokat végeztünk az EP7-A2 CLSI-protokoll útmutatásai szerint.[18] A QMS Tacrolimus immunvizsgálatot a tacrolimusszal együtt adott gyógyszerekkel és gyakori gyógyszerekkel tesztelték a lehetséges interferencia tekintetében. A vizsgált vegyületeket 5 és 12 ng/mL tacrolimus gyógyszert tartalmazó humán teljes vér vérmintákhoz adták, és a QMS Tacrolimus immunvizsgálattal tesztelték. A 10%-os hibánál nagyobb tacrolimus koncentráció visszanyerést tekintették a vizsgálattal való interferenciának. Az alábbi táblázatban szereplő vizsgált vegyületek az ott feltüntetett koncentrációban nem zavarják a vizsgálatot. A tacrolimus átlagos százalékos visszanyerése 91-109% között volt.

Vegyület	Koncentráció (ng/mL)	Vegyület	Koncentráció (ng/mL)
Paracetamol	200 000	Kanamicin B-szulfát	100 000
Aciklogvanizin / Aciklovir	1 000 000	Ketokonazol	100 000
Allopurinol	50 000	Labetalol	17 100
Amikacin-szulfát	150 000	Lidokain	100 000
Amfotericin B	100 000	Lítium	35 000
Ampicillin	100 000	Lovasztatin	20 000
Aprezolin / Hidralazin	100 000	Metil-prednizolon	100 000
Atenolol	40 000	Metoklopramid	100 000
Azatioprin	100 000	Minoxidil	60 000
Azitromicin	5 000	Morfin-szulfát	100 000
Bromokriptin / 2-Bróm-α-ergokriptin	8 000	Mikofenolsav	100 000
Karbamazepin	120 000	N-Acetil-prokainamid	120 000

A táblázat folytatása

Vegyület	Koncentráció (ng/mL)	Vegyület	Koncentráció (ng/mL)
Cefazolin	150 000	Nadolol	1 200
Ceftriaxon	500 000	Naproxen	100 000
Cefalosporin C	100 000	Nikardipin	500
Klórpromazin	50 000	Nikotin	20 000
Kloramfenikol	250 000	Nifedipin	100 000
Klórdiazepoxid	20 000	Penicillin G	100 000
Klorokvin	1 500	Pentobarbitál	100 000
Cimetidin	100 000	Fenobarbitál	150 000
Ciprofloxacin	7 400	Fenitoin	100 000
Klaritromicin	5 000	Prazozin	100 000
Klonidin	100	Prednizolon	100 000
Kolchicin	90	Prednizon	100 000
Kortizon	1 200	Primidon	100 000
Ciklosporin / Ciklosporin A	10 000	Probukol	600 000
Diazepám	20 000	Prokainamid	100 000
Digitoxin	100 000	Propoxifen	4000
Digoxin	10 000	Propranolol	40 000
Diltiazem	60 000	Kinidin	100 000
Dizopiramid	100 000	Ranitidin	200 000
Eritromicin	200 000	Rifampin / Rifampicin	100 000
Etoszuximid	300 000	Szalicilsav	500 000
Everolimus	100	Sirolimus (Rapamicin)	300
Famotidin	10 000	Spektinomicin	100 000
Flukonazol	100 000	Sztreptomicin	100 000
Flucitozin / 5-Fluorocitozin	40 000	Szulfametoxazol	150 000
Furoszemid	100 000	Teofillin	250 000
Ganciklovir	1 000 000	Tiklopidin	150 000
Gemfibrozil	100 000	Tobramicin	100 000
Gentamicin	120 000	Triamteren	100 000
Hidroklorotiazid	40 000	Trimetoprim	40 000
Hidrokortizol	100 000	Valproinsav	500 000
Ibuprofen	400 000	Vankomicin	100 000
Itrakonazol	100 000	Verapamil	100 000
Kanamicin A-szulfát	100 000		

Amikor az alábbi potenciálisan interferáló endogén vegyületeket a feltüntetett koncentrációban a QMS Tacrolimus immunvizsgálattal tesztelték, a kapott visszanyerés 92-108% között volt.

Potenciálisan interferáló anyag	Koncentráció
Albumin	12 g/dL
Bilirubin	60 mg/dL
Koleszterin	500 mg/dL
Kreatinin	5 mg/dL
Triglicerid	15 00 mg/dL
Húgysav	20 mg/dL
IgG gamma globulin	12 g/dL
Reumafaktor	500 NE/mL
HAMA*	400 ng/mL
Hematokrit	12% - 64%

*HAMA = humán anti-egér antitestek

SZAKIRODALOM

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® [package insert]. 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.

Szójegyzék:
http://www.thermofisher.com/symbols-glossary

Gyártó:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Az USA-ban ingyenesen hívható szám: 800-626-0690

EC REP
Meghatalmazott képviselő az Európai Unióban:
B·R·A·H·M·S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Ügyfélszolgálat
Az USA-ban ingyenesen hívható szám: 1-800-232-3342
Más országokban: Vegye fel a kapcsolatot a Microgenics helyi képviseletével.

A Bio-Rad Lyphocheck® a Bio-Rad® bejegyzett védjegye.
A MORE diagnosztikai kontrollok a MORE Diagnostics, Inc tulajdonában vannak.
Az ARCHITECT az Abbott Laboratories® bejegyzett védjegye.
Minden más védjegy a Thermo Fisher Scientific Inc. és leányvállalatainak tulajdona.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Minden jog fenntartva.

A tájékoztató frissítése itt található:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-15-HU
2023 12

thermo scientific