

전문의약품

체외 진단 전용

REF 10015556

사용 전에 이 질량 미소구체 시스템(Quantitative Microsphere System, QMS) 제품 설명서를 신중히 읽어보아야 합니다. 반드시 제품 설명서에 따라야 합니다. 본 제품 설명서의 지침과 차이가 있는 경우 검사 결과의 신뢰성을 보장할 수 없습니다.

용도

QMS Tacrolimus Immunoassay는 자동화된 임상 화학 분석기에서 인간 전혈에 포함된 타크로리무스의 정량 분석에 사용됩니다. 획득한 결과는 타크로리무스 요법을 받는 신장, 간, 심장 이식 환자의 관리에 있어 보조적 수단으로 사용됩니다. 이 체외 진단 장치는 임상 실험실에서만 사용할 수 있습니다.

검사 요약 및 설명

타크로리무스(FK506, PROGRAF[®])는 스트렙토마이신 초쿠바엔시스라는 공팡이에서 유래한 매크롤라이드 항생 물질로서 강력한 면역억제 기능이 있어 신장 및 간 이식을 받는 환자에게 처방됩니다.¹ 타크로리무스는 T 세포의 증식을 활성화하는 칼시뉴린 (포스파타아제의 특성을 가짐)의 억제제입니다.^{2,4} 세포 내에서 타크로리무스는 일단의 결합 단백질인 FKBP(FK506 결합 단백질)과 결합된 후 타크로리무스, FKBP, 칼시뉴린 A 및 B, 칼모둘린을 포함한 펜타머 복합체를 형성합니다.^{2,5} 펜타머가 형성되면 세포 핵으로의 수송을 위한 전사 인자를 활성화하는 데 필요한 칼시뉴린의 포스파타아제 작용이 억제됩니다. 따라서 T 림프구에서 특히 IL-2와 같은 시토카인의 유전자 발현이 손상되고 환자에게 면역억제 효과가 나타납니다.^{2,5}

전혈과 혈장 간의 타크로리무스 분포는 헤마토크리트, 약물 농도, 혈장 단백질 농도와 같은 몇 가지 요인에 따라 달라집니다. 전혈 대 혈장 농도비는 평균 35(12~67 사이)였습니다.^{6,7} 타크로리무스는 시토크롬 P-450 시스템(주로 CYP3A)에 의해 광범위하게 대사됩니다.^{8,11} 약물은 탈메틸화 및 히드록시화를 통해 8개 이상의 대사산물(M-I ~ M-VIII)로 대사됩니다.¹² 체내에서 타크로리무스의 평균 반감기는 48시간으로 추정됩니다.^{8,11} 또한 전혈 내 타크로리무스 농도는 환자 내에서 뿐만 아니라 환자 간에 큰 변동이 있었습니다.¹³ 타크로리무스는 신중하게 자주 모니터링하는 것이 좋습니다.¹⁴

절차의 원리

QMS Tacrolimus Immunoassay는 입자의 균질성을 강화한 비탁 면역측정법입니다. 이 분석법은 시료의 약물과 마이크로 입자 위에 코팅된 약물이 타크로리무스 항체 시약의 항체 결합부위를 두고 경쟁하는 것에 기초합니다. 타크로리무스가 코팅된 마이크로 입자 시약은 항타크로리무스 항체 시약이 있고 시료의 경쟁 시약이 없는 상태에서 급속히 응집됩니다. 흡광도 변화율은 광도 측정에서 700nm로 측정됩니다. 타크로리무스를 포함한 시료가 추가되면 응집 반응이 부분적으로 억제되어 흡광도 변화율이 낮아집니다. 농도 의존적인 고전적 응집 억제 곡선은 최소 타크로리무스 농도에서의 최대 응집률과 최대 타크로리무스 농도에서의 최소 응집률로 얻습니다.

시약

시약 키트

QMS Tacrolimus, **REF** 10015556은 즉시 사용 가능한 3개의 액체 시약 키트로 제공되며 다음을 포함하고 있습니다.

REAGENT 1 (1 x 18mL)

REAGENT 2 (1 x 12mL)

EXT 추출 시약 1 x 50mL(작업 용액 필요, 2페이지 추출 용액 준비 참조)

반응 성분

INGRED	성분	농도
REAGENT 1	항타크로리무스 단클론 항체(토끼) 아지드화나트륨	<1.0% 0.09%
REAGENT 2	타크로리무스 코팅 마이크로 입자 아지드화나트륨	<0.3% 0.09%
EXT	아지드화나트륨	0.09%

시약 취급 및 보관

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2**, **EXT**(추출 시약)은 즉시 사용할 수 있습니다.
- 사용 전에 여러 번 뒤집어서 기포가 생기지 않도록 하십시오.
- 시약 카트리지에 기포가 있는 경우 이를 제거하십시오. 아니면 시약을 적절한 보관 온도에 두어 기포가 빠지도록 하십시오. 용량 감손을 최소화하려면 피펫으로 기포를 제거하지 마십시오.
- **REAGENT 1** 또는 **REAGENT 2** 카트리지 중 하나가 비면 두 카트리지를 모두 교체하고 해당 실험실에 설정된 정도 관리 요건에 따라 각 수준의 대조물질 중 최소 1개의 대조물질 시료로 보정을 확인하십시오. 정도 관리의 결과가 허용 범위를 벗어난 경우 재보정이 필요할 수 있습니다.
- 시스템별 정보는 분석기별 분석 시스템 변수 자료를 참조하십시오.
- 사고로 쏟은 경우 실험실 SOP, 지역/국가 규정에 따라 물질을 치우고 폐기하십시오.
- 배송 시 포장에 손상이 있는 경우 기술 지원 담당자에게 문의하십시오(본 설명서의 뒷 페이지 참조).

⚠ 주의: 시약의 기포는 카트리지의 시약 농도를 적절히 검출하지 못하도록 방해할 수 있으며, 이로 인해 시약 흡입이 불충분해져 결과에 영향을 미칠 수 있습니다. **2~8°C**에서 보관하는 경우 개봉되지 않은 시약은 유효기간까지 안정적입니다. **시약을 얼리거나 32°C를 초과하는 온도에 노출시키지 마십시오.**

⚠ 경고 및 주의 사항

- 체외 진단 전용입니다. 모든 실험실 시약의 취급에 요구되는 일반 주의 사항에 따라하십시오.
- 다른 키트 로트 번호의 물질이 섞이지 않도록 하십시오.
- 유효기간이 지난 시약 키트는 사용하지 마십시오.

위험: QMS Tacrolimus Immunoassay에는 ≤3.0%의 인간 혈청 알부민(HSA)과 ≤1.0%의 약물 특이적 항체(토끼)가 포함되어 있습니다.

QMS Tacrolimus 추출 시약에는 ≤9.0%의 황산아연(ZnSO4)이 포함되어 있습니다.

H317 - 피부 알레르기 반응을 유발할 수 있습니다.

H334 - 흡입한 경우 알레르기 또는 천식 증상 또는 호흡 곤란을 유발할 수 있습니다.

H318 - 심각한 눈 손상을 유발합니다.

H411 - 수중 생물에 대해 독성이 있으며 장기간 영향이 지속됩니다.

분무 또는 증기를 흡입하지 마십시오. 오염된 작업복을 작업장 밖으로 반출하지 마십시오. 보호용 장갑/보안경/안면 보호 마스크를 착용하십시오. 환기가 부적절한 상황에서는 호흡기 보호 장치를 착용하십시오. 피부에 묻을 경우: 다량의 비누물로 충분히 씻어냅니다. 흡입한 경우: 호흡 곤란을 보이는 경우 노출된 직원을 신선한 공기가 있는 장소로 옮기고 호흡하기 편한 자세로 안정을 취하도록 합니다. 피부 자극 또는 발진이 생긴 경우: 의학적 상담/처치를 받으십시오. 호흡기 증상이 나타날 경우: 독성 물질 센터 또는 의사에게 도움을 요청하십시오. 재사용 전 오염된 의류를 세탁하십시오. 지역/국가/국제 규정에 따라 적합한 장소에 내용물/용기를 폐기하십시오.

외부 환경으로 배출시키지 마십시오. 보호용 장갑/보안경/안면 보호 마스크를 착용하십시오. 눈에 들어간 경우: 몇 분간 물로 조심스럽게 씻어냅니다. 콘택트 렌즈 착용 시 어렵지 않으면 렌즈를 제거한 다음 계속해서 씻어냅니다. 독성 물질 센터 또는 의사에게 즉시 도움을 요청하십시오. 누출 물질을 수거합니다. 지역/국가/국제 규정에 따라 적합한 장소에 내용물/용기를 폐기하십시오.

⚠ 주의: 인간 유래 물질은 FDA가 승인한 방법으로 HIV1 및 2, B형 간염, C형 간염에 대한 검사를 마쳤으며, 결과는 음성이었습니다. 그러나 절대적으로 확실하게 잠재적인 감염의 위험을 배제할 수 있는 검사 방법은 없으므로, 환자 시료와 같이 신중하게 물질을 취급해야 합니다. 노출된 경우 해당 보건 당국의 지침을 따라야 합니다.

분석 성분으로 사용된 시약에는 ≤ 0.09%의 아지드화나트륨이 포함되어 있습니다. 피부 및 점막에 닿지 않도록 주의하십시오. 추가적인 주의 사항, 취급 지침, 사고 노출 처리에 대한 내용은 SDS를 참조하십시오.

검체 채취 및 취급

- EDTA 튜브에 채취된 전혈 검체만 사용할 수 있습니다. 모든 채취 튜브에 대한 제조업체의 처리 지침을 따르십시오. 주의를 기울여 검체를 채취할 때부터 분석을 수행할 때까지 검체의 무결성을 보호하십시오. 검체는 혈액 채취 시간과 마지막 투약 시간을 모두 라벨에 표기해야 합니다.
- 검체는 캡을 씌워야 하며 2-8°C에서 보관했을 때 7일, ≤ -20°C에서 보관한 경우 6개월 내에 분석을 완료해야 합니다.^{6,10-11} 반복된 냉동과 해동을 삼가하십시오. 시료에 기포가 생성되지 않도록 하십시오.

절차

내용물

- QMS Tacrolimus Reagent Kit, [REF] 10015556

제공되지 않은 필수 시약

- QMS Tacrolimus Calibrator, [REF] 10015573, CAL A: 1 x 4mL, CAL B-F: (1 x 2mL)
- 정도 관리 제품
권장 물질:
 - MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA Control, LOW, 280-Q: (4 x 4mL)
MID, 280-1: (4 x 4mL)
HIGH, 280-2: (4 x 4mL)
 - 판매 중인 기타 정도 관리 제품은 Thermo Fisher Scientific 기술 지원에 문의하십시오.
- 메탄올, HPLC 등급(≥ 99.8% 순도)
- 동근 바닥의 마이크로 원심분리기 튜브
- 자동화 임상 화학 분석기

시료 준비

참고: 공급업체별 제품 설명서의 지침과 대조물질에 대한 취급 권장사항(제공된 경우)에 따르십시오.

추출 전에 모든 칼리브레이터와 환자 검체가 상온이 되도록 하십시오. 칼리브레이터는 최소 15-20분 동안 혼합해야 하며 환자 검체는 사용 전에 상온에서 완전히 혼합해야 합니다. 천천히 뒤집어 칼리브레이터와 환자 검체를 잘 혼합하십시오(로커 사용 권장). 기포가 형성되지 않도록 하십시오.

추출 용액 준비

- 상온의 추출 시약 10mL를 깨끗하고 건조하고 밀폐된 병에 추가합니다.
- 정확히 40mL의 HPLC 등급 메탄올(≥ 99.8% 순도)을 병에 추가하고 천천히 혼합합니다. 이 병의 라벨에 “타크로리무스 작업 추출 용액”을 표기합니다. 라벨에 현재 날짜와 유효기간(준비일로부터 2주)을 기록합니다. 실온에서 보관하십시오.

시료, 칼리브레이터, 대조물질의 추출 절차

최적의 결과를 위해 아래의 단계에 정확히 따르십시오. 추출물은 추출 후 즉시 실행되어야 합니다.

- 시료, 칼리브레이터, 대조물질의 추출을 위해 동근 바닥의 마이크로 원심분리기 튜브를 준비하고 라벨을 부착합니다. 각 시료를 위한 마이크로 원심분리기 튜브를 준비합니다.
- 피펫으로 정확히 200µL의 시료, 칼리브레이터, 대조물질을 측정하여 라벨이 표시된 마이크로 원심분리기 튜브에 옮깁니다. 피펫으로 시료를 흡인하고 시료 바이알의 가장자리에 피펫 팁을 살짝 대어 여분의 시료를 제거한 다음 마이크로 원심분리기 튜브의 안쪽 벽에 피펫 팁을 대고 시료를 분주합니다. **참고:** 피펫 팁에 기포가 없는지 확인합니다. 팁에 공기가 있으면 부정확한 결과의 원인이 될 수 있습니다.
- 피펫으로 정확히 200µL의 추출 용액을 측정하여 마이크로 원심분리기 튜브에 옮깁니다. 여러 시료를 준비하는 경우 리피터 피펫을 사용하여 추출 용액을 흡인, 분주하는 것이 좋습니다. 추출 용액을 분주하기 전에 피펫 팁의 기포를 제거합니다.
- 마이크로 원심분리기 튜브에 캡을 씌우고 즉시 15-30초 동안 최대 속도로 돌립니다. 각 튜브가 균일하게 혼합되는지 검사합니다. 잘 혼합되지 않은 시료가 있으면 잘 혼합되지 않은 부분을 제거하고 다시 돌립니다.
- 마이크로 원심분리기 튜브의 혼합물을 5-7분 동안 상온에 둡니다.
- 15,000 ~ 16,000xg에 해당하는 RPM에서 5분 동안 마이크로 원심분리기 튜브를 원심분리기에 둡니다.
- 시료 캡에 상층액을 따라내고(기포가 형성되지 않도록 함) 즉시 측정을 실행하여 시료 증발을 최소화하십시오. 컵을 두드려 마지막 방울을 떨어내지 마십시오. 필릿이 교란될 수 있습니다.
- 분석 후 추출물을 폐기합니다. 시료를 다시 검사하려면 새로운 추출이 필요합니다.

참고: QMS Tacrolimus Immunoassay의 시료 추출 단계에 대한 추가적인 팁과 권장사항을 Thermo Fisher Scientific 기술 지원팀에서 제공 받을 수도 있습니다.

분석 절차

분석을 실행하고 보정하는 방법에 대한 자세한 설명은 기기별 작동 설명서를 참조하십시오.

검체 희석 절차

QMS Tacrolimus CAL A(0.0ng/mL)를 사용하여 분석의 선형성 외부에서 시료를 수동으로 희석합니다.

수동 희석 프로토콜

타크로리무스 농도가 30 ng/mL보다 큰 것으로 보고된 환자 시료에 대해 시료를 추출하기 전에 검체와 QMS Tacrolimus CAL A(0.0 ng/mL)를 1:1로 희석하여 수동 희석을 수행할 수 있습니다. 희석은 희석 검사 결과가 1 ng/mL의 분석 감도보다 크도록 수행되어야 합니다. 보고된 농도에는 수동 희석 계수를 곱해 최종 시료 농도를 구해야 합니다.

최종 시료 농도 = 보고된 농도 x 수동 희석 계수

수동 희석 계수 = (시료 부피 + CAL A의 부피) ÷ 시료 부피

보정

QMS Tacrolimus Immunoassay는 전체 보정(6개 포인트) 절차를 사용하여 보정해야 합니다. 전체 보정을 수행하려면 QMS Tacrolimus Calibrator A, B, C, D, E, F를 검사합니다. QMS Tacrolimus Immunoassay에는 QMS Tacrolimus Calibrator만 사용해야 합니다. QMS Tacrolimus Immunoassay의 보정에 QMS Tacrolimus Calibrator 세트([REF] 10015573)를 사용하지 않으면 타크로리무스에 대한 정확한 정량 분석 결과를 얻을 수 없습니다.

보정 시 각각 새 로트 번호를 사용해야 합니다. 해당 연구실에 설정된 정도 관리 요건에 따라 각 수준의 대조물질 중 최소 1개의 대조물질 시료로 보정 곡선을 검증합니다. 정도 관리의 결과가 허용 범위를 벗어난 경우 시정 조치를 취해야 합니다.

보정 빈도

재보정 권장 시점:

- 칼리브레이터 또는 시약(키트) 로트 변경 후
- 월간 기기 유지보수 수행 후
- 정도 관리 절차 후 수시로

정도 관리

모든 정도 관리 절차는 지역적/국가적 규정 또는 인가 요구 사항에 따라 실시해야 합니다.

해당하는 경우 실험실 표준 작업 절차 및/또는 품질 보증 플랜에서 추가적인 정도 관리 요건 및 잠재적인 시정 조치를 참조하십시오.

QMS Tacrolimus Immunoassay에 권장되는 정도관리 요건:

- 환자 시료를 추출하고 분석할 때마다 각 수준의 대조물질 중 최소 1개의 대조물질 시료를 실행해야 합니다.
- 더욱 빈번한 정도관리 모니터링이 필요한 경우 해당 연구실에 설정된 정도 관리 절차에 따르십시오.
- 모든 정도 관리 절차는 지역적/국가적 지침에 따라 실시해야 합니다.
- 정도 관리 결과가 해당 연구실에서 정의한 허용 범위 내에 있지 않은 경우 환자의 수치를 의심해야 하며 이를 보고해선 안됩니다. 시정 조치를 취해야 합니다.

결과

QMS Tacrolimus Immunoassay 결과의 단위는 ng/mL로 보고됩니다.

결과 보고: 실험실은 결과를 QMS Tacrolimus 방법으로 얻었다는 것을 보고해야 합니다.

결과 오류 코드:

일부 결과에는 결과 오류 코드가 포함될 수 있습니다. 오류 코드에 대한 설명은 기기별 작동 설명서를 참조하십시오.

절차의 한계

- 서로 다른 제조업체의 분석법을 사용하여 측정된 특정 검체의 타크로리무스 농도는 분석 방법과 시료 특성의 차이로 인해 달라질 수 있습니다. 한 가지 분석법을 사용하여 모니터링하는 것이 좋습니다.
- 면역분석법은 비특이적이며 대사산물과 교차 반응합니다. 면역분석법의 이러한 점 때문에 타크로리무스의 농도가 과대측정될 수 있습니다(방법 비교 절 참조). 타크로리무스의 제거 기능이 손상된 경우 대사산물이 더욱 크게 측정되어 과대측정이 더 커질 수 있습니다. 이러한 경우 특이적 분석(예: 크로마토그래피 방법)을 사용할 것을 고려해야 합니다.
- 모집단에서 낮은 빈도로 이호 항체 간섭이 발생할 수 있습니다. 이 항체는 결과의 오류를 유발할 수 있습니다(마이크로 입자 시약의 응집으로 인해 결과가 실제보다 낮게 나오는 경우 등).
- 검사 소견은 항상 환자의 병력, 임상 검사 및 기타 소견과 함께 평가해야 합니다. 결과가 임상적 징후와 일관되지 않는 경우 결과를 확인하기 위한 추가 검사를 수행해야 합니다.
- 동반 투여되는 약물의 효과, 타크로리무스 농도를 증가시키거나 감소시키는 약물에 대한 정보는 PROGRAF 제품 설명서를 참조하십시오.¹⁴

예측치

이 분석법을 사용한 전혈 내 타크로리무스의 최적 치료 범위는 설정되지 않았습니다. 타크로리무스의 치료 범위는 임상적 요인과 사용된 방법에 따라 달라질 수 있습니다.

환자의 임상적 상태는 서로 다르기 때문에 자신의 경험과 각 환자의 임상적 요구 사항에 근거하여 임상적 바람직한 치료 관리 범위를 설정해야 합니다. 치료 요법의 변경은 타크로리무스 수치만으로 판단해선 안됩니다. 타크로리무스의 면역억제 및 신독성 효과에 대한 개인의 민감도 차이, 기타 면역억제제의 동반 투여, 이식 종류, 이식후 시간 및 다수의 기타 요인으로 인해 최적의 혈액 타크로리무스 농도를 위한 다른 요구 사항이 필요할 수 있습니다.

최적 범위는 사용된 검사법에 따라 다를 수 있으므로 판매되는 각 검사법마다 최적 범위를 설정해야 합니다. 서로 다른 분석 방법에서 얻은 수치는 방법과 교차 반응성의 차이로 인해 서로 교차하여 사용할 수 없으며 교정 계수를 적용할 수 없습니다. 따라서 개별 환자에 대해 한 분석법을 일관적으로 사용하는 것이 좋습니다.

특이적 성능 특성

시판되는 자동화 임상 화학 분석기(비탁 정량 분석 사용)에서 얻은 대표 성능 결과값이 아래에 나와 있습니다. 달리 명시하지 않는 한 모든 분석은 여기에 제공된 절차에 따라, Beckman AU680 분석기를 사용하여 수행되었습니다. 개별 실험실에서 얻은 결과는 이 데이터와 다를 수 있습니다. 추가적인 분석기별 성능 데이터는 분석기별 응용 프로토콜을 참조하거나 Thermo Fisher Scientific 기술 지원팀에 도움을 요청하십시오.

보고 가능한 범위

QMS Tacrolimus Immunoassay의 보고 가능한 타크로리무스 농도 범위는 1ng/mL (작동 감도에 기초한 최소 보고 가능 수치) ~ 30ng/mL입니다.

작동 감도(정량 한계)

작동 감도는 20% CV의 분석간 정밀도로 측정할 수 있는 가장 낮은 타크로리무스 농도를 나타냅니다. 연구는 0.5 ~ 5.0ng/mL의 타크로리무스를 첨가한 전혈 검체를 사용하여, 30일 동안 실험당 1회 측정, 하루 2번의 빈도로 실험하여 총 60개 데이터 지점을 얻었습니다. 높은 쪽의 95% 신뢰한계에서 LoQ는 0.9ng/mL로 계산되었으며, 이는 분석 한한이 1.0ng/mL임을 뒷받침합니다. 0.9ng/mL에서 관찰된 회수율은 102.0%입니다.

희석 선형성

선형성 연구는 QMS Tacrolimus Calibrator A가 든 고농도 타크로리무스 시료를 분석 범위 전체에 골고루 분포된 농도로 희석하여 수행하였습니다. 회수율은 측정된 타크로리무스 농도를 예상 농도로 나누어 측정하였습니다. 예상 농도는 검사된 높은 농도에 희석 계수를 곱하여 계산되었습니다.

고농도 시료 비율(%)	예상 농도(ng/mL)	측정 농도(ng/mL)	회수율(%)
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

예상 농도 = 고농도 시료 비율(%) x 고농도 측정 농도

회수율(%) = (측정 농도 ÷ 예상 농도) x 100

회수

검사 범위 전체 농도에서 음성 전혈 시료에 특정량의 타크로리무스를 첨가하였습니다. 이 시료들의 타크로리무스 농도는 LC-MS/MS로 검증되었으며 QMS Tacrolimus Immunoassay로 검사되었습니다. 결과는 아래와 같습니다.

시료 ID	n	예상 농도 (ng/mL)	측정 농도 (ng/mL)	회수율(%)
시료 1	21	2.7	2.7	101.8
시료 2	21	9.8	10.8	109.4
시료 3	21	18.0	17.7	98.2
시료 4	21	19.8	21.3	107.5
시료 5	21	27.0	27.1	100.4

회수율(%) = (측정 농도 ÷ 예상 농도) x 100

정밀도

정밀도는 전혈로 풀을 구성한 환자 및 첨가(spiked)시료를 사용하여 평가하였습니다. 연구는 CLSI 프로토콜 EP5-A2에 설명된 방법으로 수행되었습니다.¹⁵ 각 시료는 실험당 2회 반복으로 20일 동안 하루 2번 분석하였습니다. 평균, 실험 내/전체 실험 SD 및 %CV가 계산되었습니다. 대표 결과값은 아래에 나와 있습니다.

샘플	n	평균(ng/mL)	실험 내		전체 실험	
			SD	%CV	SD	%CV
첨가 시료 A	80	3.0	0.2	4.9%	0.2	7.1%
첨가 시료 B	80	10.0	0.2	1.9%	0.4	3.6%
첨가 시료 C	80	20.9	0.4	1.9%	1.1	5.0%
환자 시료 A	80	3.2	0.1	4.1%	0.2	6.2%
환자 시료 B	80	10.4	0.2	2.2%	0.4	3.6%
환자 시료 C	80	24.2	0.5	2.1%	1.1	4.6%

방법 비교

QMS Tacrolimus Immunoassay를 두 가지 LC-MS/MS 방법(시스템 1 및 시스템 2)과 Abbott ARCHITECT® Tacrolimus Assay와 비교하기 위해 상관관계 연구가 수행되었습니다. 연구에는 타크로리무스를 투여하는 신장, 간, 심장 이식 환자에게서 얻은 인간 전혈 EDTA 검체가 사용되었습니다. 검사된 모든 검체는 일반적으로 9개월 미만의 이식후 성인 환자에게서 주로 채취한 최저 농도 시료였습니다. 환자는 타크로리무스 단독 또는 기타 면역억제 약물을 동반 투여하는 약물 요법을 받는 상태에서 검사를 진행하였습니다. 동반 투여 약물은 주로 미코페놀레이트 모페틸(MMF), 미코페놀산(MPA), 코르티코스테로이드였습니다. 서로 다른 방법 간의 Deming 회귀분석 결과¹⁶가 아래 표에 나와 있습니다.

비교 방법	n	기울기 (95% CI*)	절편 (95% CI)	상관계수 (R)
LC-MS/MS 시스템 1	383	1.111 (1.084 ~ 1.137)	0.53 (0.31 ~ 0.76)	0.972
LC-MS/MS 시스템 2	232	1.130 (1.092 ~ 1.167)	0.71 (0.42 ~ 1.01)	0.967
Abbott ARCHITECT Tacrolimus Assay	208	1.126 (1.071 ~ 1.181)	-0.03 (-0.63 ~ 0.56)	0.937

*신뢰구간(CI)

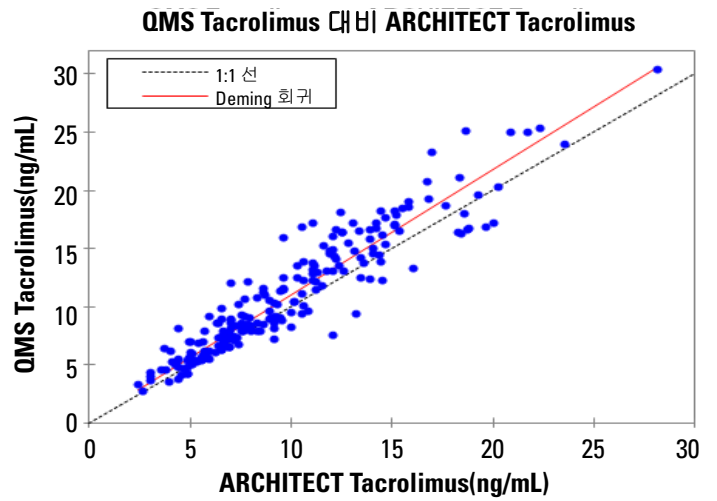
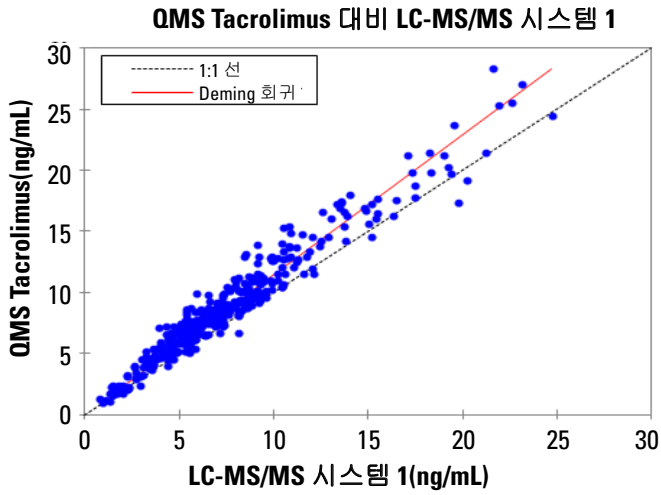
QMS Tacrolimus 검체 범위: 1.0 ~ 30.8ng/mL

LC-MS/MS 검체 범위: 0.8 ~ 29.5 ng/mL

ARCHITECT Tacrolimus 검체 범위: 2.4 ~ 28.1 ng/mL

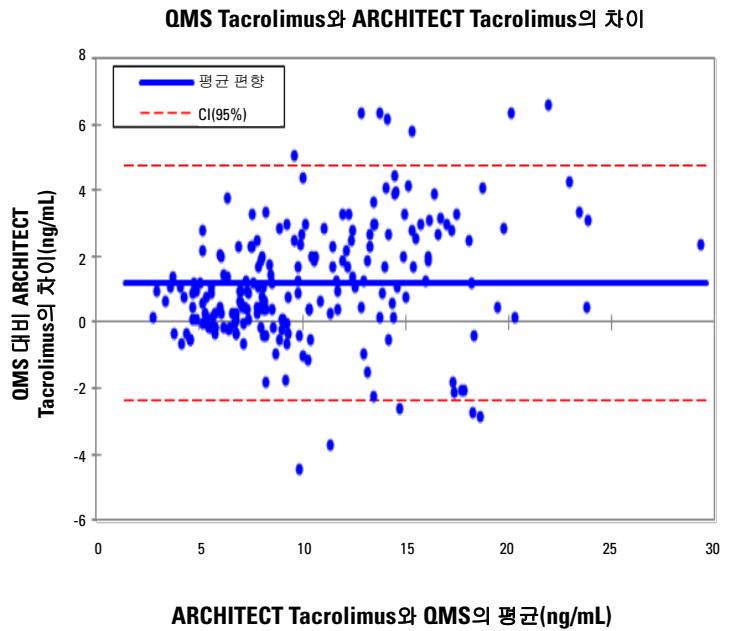
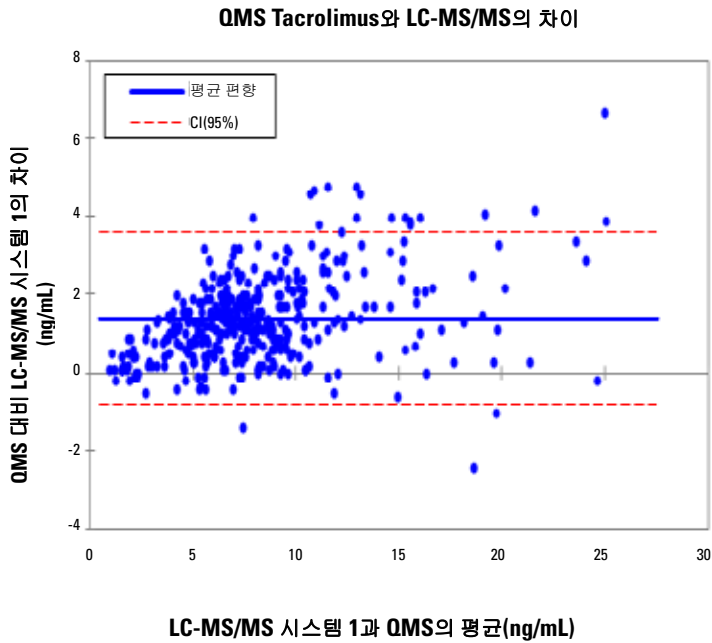
신장, 간, 심장 이식 결함 시료에 대한 QMS Tacrolimus 대비 LC-MS/MS System 1의 결과를 보여주는 산점도.

신장, 간 이식 결함 시료에 대한 QMS Tacrolimus 대비 Abbott ARCHITECT Tacrolimus의 결과를 보여주는 산점도.



신장, 간, 심장 이식 결함 시료에 대한 QMS Tacrolimus 대비 LC-MS/MS System 1의 결과를 보여주는 Bland-Altman 편향도. 평균 편향은 QMS Tacrolimus Immunoassay와 LC-MS/MS 시스템 1의 결과 간에 평균 차이로 계산되었습니다.

신장, 간 이식 결함 시료에 대한 QMS Tacrolimus vs Abbott ARCHITECT Tacrolimus 분석법의 결과를 보여주는 Bland-Altman 편향도. 평균 편향은 QMS Tacrolimus Immunoassay와 ARCHITECT Tacrolimus의 결과 간에 평균 차이로 계산되었습니다.



특이성

특이성 연구는 CLSI 프로토콜 EP7-A2를 지침으로 하여 수행되었습니다.¹⁸ 교차 반응은 이용 가능한 주요 타크로리무스 대사산물에 대해 검사하였습니다. 타크로리무스와 함께 임상적으로 투여되는 기타 약물을 검사하여, QMS Tacrolimus Immunoassay를 사용할 때 이 화합물들이 타크로리무스의 정량화에 영향을 미치는지 여부를 측정하였습니다.

대사산물의 교차 반응도는 다음 공식을 사용하여 계산하였습니다.

$$\text{교차 반응도(\%)} = \frac{\text{측정 농도} - \text{예상 농도}}{\text{교차 반응 물질 농도}} \times 100$$

타크로리무스 대사산물의 교차 반응도

주요 타크로리무스 대사산물에 대한 QMS Tacrolimus Immunoassay의 교차 반응도가 아래 표에 나타나 있습니다. 두 가지 농도의 타크로리무스 약물을 포함한 인간 전혈 시료에 검사 대상 화합물을 추가하여 검사되었으며, 3회 반복하였습니다. 교차 반응율도 계산하였습니다.

타크로리무스 대사산물	대사산물 농도(ng/mL)	예상 농도 (ng/mL)	측정 농도 (ng/mL)	회수율 (%)	교차 반응도 (%)
M-I(13-O-디메틸)	20	5.8	7.6	131.0	9.2
	20	13.3	14.8	111.3	7.7
M-II(31-O-디메틸)	20	5.7	5.9	103.5	0.7
	20	13.2	13.1	99.2	-0.5
M-III(15-O-디메틸)	20	5.3	6.0	113.2	3.8
	20	12.4	13.0	104.8	2.7
M-IV(12-히드록실)	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-다이디메틸)	20	5.4	7.3	135.2	9.3
	20	13.4	14.7	109.7	6.7
M-VII(13,15-O-다이디메틸) + M-VI(13,31-O-다이디메틸)	20	5.4	5.8	107.4	2.2
	20	13.4	13.8	103.0	2.0

회수율(%) = (측정 농도 ÷ 예상 농도) x 100

타크로리무스 대사산물 M-IV의 관찰된 교차 반응도는 ≤ 174.8%였습니다. 타크로리무스 대사산물 M-V 및 M-VIII은 가능한 교차 반응도의 측정을 위해 평가되지 않았습니다.

타크로리무스 환자 시료에는 환자 약물에 비해 저농도의 타크로리무스 대사산물을 포함되어 있습니다. M-I는 약 6%, M-II는 약 15%, M-III는 약 6%였으며 M-IV는 거의 검출되지 않았습니다.^{3,12,19}

간섭 물질

간섭 연구는 CLSI 프로토콜 EP7-A2를 지침으로 하여 수행되었습니다.¹⁸ QMS Tacrolimus Immunoassay는 타크로리무스 동반 투여 약물과 일반 약물을 사용하여 잠재적인 간섭이 없는지 검사되었습니다. 검사 대상 화합물을 약 5 및 12ng/mL의 타크로리무스 약물을 포함한 인간 전혈 시료에 추가하고 QMS Tacrolimus Immunoassay를 사용하여 검사하였습니다. 타크로리무스 농도 회수율의 오차가 10%보다 높으면 분석법과 간섭이 있는 것으로 간주되었습니다. 검사 대상 화합물은 아래 표에 나열된 농도로 검사되었으며 분석법과 간섭을 보이지 않았습니다. 타크로리무스 회수율 평균의 범위는 91% ~ 109%였습니다.

화합물	농도(ng/mL)	화합물	농도(ng/mL)
아세트아미노펜	200,000	황산카나마이신 B	100,000
아시클로구아노신 / 아시클로비어	1,000,000	케토코나졸	100,000
알로푸리놀	50,000	라베탈롤	17,100
아미카신 황산염	150,000	리도카인	100,000
암포테리신 B	100,000	리튬	35,000
암피실린	100,000	로바스타틴	20,000
아프레솔린 / 히드랄라진	100,000	메틸프레드니솔론	100,000
아테놀롤	40,000	메토클로프라미드	100,000
아자티오프린	100,000	미녹시딜	60,000
아지트로마이신	5,000	황몰핀	100,000
브로모크립틴/2-브로모-α-에르고크립틴	8,000	미코페놀산	100,000
카르바마제핀	120,000	N,N-아세틸프로카인아미드	120,000

표 계속

화합물	농도 (ng/mL)	화합물	농도 (ng/mL)
세파졸린	150,000	나롤올	1,200
세프트리악손	500,000	나프록센	100,000
세팔로스포린 C	100,000	니카르디핀	500
클로르프로마진	50,000	니코틴	20,000
클로람페니콜	250,000	니페디핀	100,000
클로르디아제폭시드	20,000	페니실린 G	100,000
클로로퀸	1,500	펜토바르비탈	100,000
시메티딘	100,000	페노바르비탈	150,000
시프로플록사신	7,400	페니토인	100,000
클라리트로마이신	5,000	프라조신	100,000
클로니딘	100	프레드니솔론	100,000
콜히친	90	프레드니손	100,000
코르티손	1,200	프리미돈	100,000
시클로스포린 / 시클로스포린 A	10,000	프로부콜	600,000
디아제팜	20,000	프로카인아미드	100,000
디기톡신	100,000	프로폭시펜	4,000
디곡신	10,000	프로프라놀롤	40,000
딜티아젯	60,000	퀴닌	100,000
디스피라미드	100,000	라니티딘	200,000
에리트로마이신	200,000	리팜핀/ 리팜피신	100,000
에토숙시미드	300,000	살리실산	500,000
에버로리무스	100	시로리무스(라파마이신)	300
파모티딘	10,000	스펙티노마이신	100,000
플루코나졸	100,000	스트렙토마이신	100,000
플루시토신 / 5-플루오로시토신	40,000	솔파메톡사졸	150,000
푸로세마이드	100,000	테오필린	250,000
간시클로비르	1,000,000	티클로피딘	150,000
겐피브로질	100,000	토브라마이신	100,000
겐타마이신	120,000	트리암테렌	100,000
히드로콜로로티아지드	40,000	트리메토프림	40,000
히드로코르티졸	100,000	발프로익산	500,000
이부프로펜	400,000	반코마이신	100,000
이트라코나졸	100,000	베라파밀	100,000
황산카나마이신 A	100,000		

표시된 농도에서 QMS Tacrolimus Immunoassay를 사용하여 검사했을 때 다음의 잠재적인 간섭 내성 물질은 92% ~ 108%의 회수율을 나타냈습니다.

잠재적인 간섭 물질	농도
알부민	12 g/dL
빌리루빈	60mg/dL
콜레스테롤	500 mg/dL
크레아티닌	5 mg/dL
트리글리세리드	1500 mg/dL
요산	20 mg/dL
IgG 감마 글로불린	12 g/dL
류마티스인자	500mL
HAMA*	400ng/mL
헤마토크리트	12% ~ 64%

*HAMA = 인간 항 생쥐 항체

참고 문헌

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 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.

용어:

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



제조회사:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
미국 수신자 부담 전화: 800-626-0690



E.U 내 공식 대리점:
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

고객 서비스

미국 수신자 부담 전화: 1-800-232-3342
기타 국가: 자세한 내용은 해당 지역 Microgenics 대리점에 문의하십시오.

Bio-Rad Lyphocheck®는 Bio-Rad®의 등록 상표입니다.
MORE Diagnostics Control은 MORE Diagnostics, Inc.의 소유입니다.
ARCHITECT은 Abbott Laboratories®의 등록 상표입니다.
다른 모든 상표는 Thermo Fisher Scientific Inc.과 그 자회사의 소유임을 알려드립니다.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.



제품 설명서 업데이트 보기:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-12-KO
2021 01

thermo
scientific