

Rx Only

Uitsluitend voor *diagnostisch gebruik in vitro*.

REF 10015556

U moet deze bijsluiter bij het QMS-pakket (Quantitative Microsphere System; kwantitatief microsfeersysteem) goed doorlezen voordat u het pakket gebruikt. De instructies in de pakketbijsluiter moeten worden opgevolgd. De betrouwbaarheid van de analyseresultaten kan niet worden gegarandeerd als wordt afgeweken van de instructies in de pakketbijsluiter.

BEOOGD GEBRUIK

De QMS Tacrolimus-analyse is bedoeld voor de kwantitatieve bepaling van tacrolimus in menselijk bloed aan de hand van geautomatiseerde klinische chemie-analyzers. De verkregen resultaten worden gebruikt als hulpmiddel bij de nazorg van patiënten die een nier-, lever- of harttransplantatie hebben ondergaan en die met tacrolimus worden behandeld. Dit apparaat voor diagnostisch gebruik *in vitro* is uitsluitend bestemd voor klinische laboratoria.

SAMENVATTING EN UITLEG VAN DE TEST

Tacrolimus (FK506, PROGRAF[®]) is een macrolide antibioticum op basis van een schimmel, *Streptomyces tsukubaensis*, met een krachtige immunosuppressieve functie en wordt voorgeschreven bij patiënten die een nier- of levertransplantatie hebben ondergaan.¹ Tacrolimus werkt als remmer van calcineurine, dat in de natuur voorkomt als fosfatase en proliferatie van T-cellen activeert.^{2,4} Op celniveau bindt tacrolimus een familie van bindende eiwitten met de naam FKBP's (FK506 binding proteins), waarna een pentamerisch complex wordt gevormd dat tacrolimus, FKBP, calcineurine A en B en calmoduline bevat.²⁻⁵ De pentameerformatie leidt tot de remming van de fosfataseactiviteit van calcineurine, die vereist is voor het activeren van transcriptiefactoren voor transport naar de celkern. Op die manier wordt de genexpressie van T-lymfocyten met name geremd voor cytokinen als IL-2, met als resultaat een immunosuppressief effect bij patiënten.²⁻⁵

De verdeling van tacrolimus tussen bloed en plasma hangt af van verschillende factoren, zoals hematocriet, de concentratie van het middel en de concentratie van eiwit in het plasma. De verhouding van de concentratie in bloed en plasma bedroeg gemiddeld 35 (tussen 12 en 67).^{6,7} Tacrolimus wordt uitgebreid gemetaboliseerd door het cytochroom P-450 systeem, voornamelijk CYP3A.⁸⁻¹¹ Het middel wordt gemetaboliseerd in ten minste acht metaboliëten (M-I – M-VIII) via demethylatie en hydroxylatie.¹² De gemiddelde halfwaardetijd van tacrolimus *in vivo* wordt geschat op 48 uur.⁸⁻¹¹ Ook zijn grote variaties binnen en tussen patiënten gemeld wat betreft de concentraties van tacrolimus in het bloed.¹³ Zorgvuldige en frequente bewaking van tacrolimus wordt aanbevolen.¹⁴

GRONDBEGINSELEN VAN DE PROCEDURE

De QMS Tacrolimus-analyse is een homogene partikelbeschermde turbidimetrische immunoassay. De analyse is gebaseerd op de competitie tussen het middel in het monster en het middel waardoor een micropartikel wordt omhuld voor antistofbindingslocaties van de tacrolimus-antistofreagens. Het met tacrolimus omhulde micropartikel wordt in de aanwezigheid van de anti-tacrolimus-antistofreagens en bij afwezigheid van een competitief middel in het monster snel geagglutineerd. Het tempo waarin de absorptie wijzigt, wordt fotometrisch bepaald bij 700 nm. Wanneer een monster met tacrolimus wordt toegevoegd, wordt de agglutinatiereactie gedeeltelijk gehinhibeerd, waardoor de snelheid van de absorptiewijziging wordt verlaagd. Een concentratieafhankelijke klassieke agglutinatiëremmingscurve kan worden verkregen met de maximale agglutinatiesnelheid bij de laagste tacrolimusconcentratie en de laagste agglutinatiesnelheid bij de hoogste tacrolimusconcentratie.

REAGENTIA

Reagenspakket

QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, is leverbaar als vloeistofpakket, klaar voor gebruik, met drie reagentia:

REAGENT 1 1 x 18 mL

REAGENT 2 1 x 12 mL

EXT Extractiereagens 1 x 50 mL (werkoplossing vereist, zie pagina 2, Preparatie van de extractieoplossing)

Reactieve ingrediënten

INGRED	Ingrediënt	Concentratie
REAGENT 1	Anti-tacrolimus monoklonale antistof (Rabbit) Natriumazide	<1,0% 0,09%
REAGENT 2	Tacrolimus-omhulde micropartikels Natriumazide	<0,3% 0,09%
EXT	Natriumazide	0,09%

VERWERKING EN OPSLAG VAN REAGENTIA

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** en **EXT** (extractiereagens) klaar voor gebruik
- Meerdere keren omkeren vóór gebruik; hierdoor wordt de vorming van luchtballen vermeden.
- Verwijder eventuele luchtballen uit de reagenscartridge. U kunt ook de reagens laten rusten bij de juiste opslagtemperatuur om de luchtballen te laten verdwijnen. Gebruik geen pipetje om de luchtballen te verwijderen, om volumeverlies te voorkomen.

- Wanneer **REAGENT 1** of **REAGENT 2** is verbruikt en de cartridge leeg is, vervangt u beide cartridges en controleert u de kalibratie op ten minste één monster van elk niveau, in overeenstemming met de geldende vereisten voor kwaliteitscontrole in uw laboratorium. Als de resultaten van de controle buiten het geaccepteerde werkingsgebied vallen, is mogelijk herkalibratie vereist.
- Raadpleeg het analyzerspecifieke blad met systeemparameters voor systeemspecifieke informatie.
- Als er per ongeluk wordt gemorst, maakt u schoon en voert u het materiaal af conform de regelgeving van uw laboratorium (ter plekke, plaatselijk en regionaal).
- Als de verpakking bij aflevering is beschadigd, neemt u contact op met uw contactpersoon bij de technische ondersteuning (raadpleeg de achterpagina van deze pakketbijsluiter).

⚠ LET OP: luchtballen in de reagens kunnen de juiste detectie van het reagensniveau in de cartridge verstoren. Dit kan onvoldoende reagensafzuiging tot gevolg hebben, wat tot onjuiste resultaten kan leiden.

⚠ Een ongeopende reagens is stabiel tot de vermelde houdbaarheidsdatum, mits bewaard bij 2 tot 8 °C.

Reagentia mogen niet worden ingevroren of worden blootgesteld aan temperaturen boven 32 °C.

⚠ WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

- Uitsluitend voor diagnostisch gebruik *in vitro*. Betrach de normale voorzorgsmaatregelen die vereist zijn voor het omgaan met laboratoriumreagentia.
- Materialen uit pakketten met een ander partijnummer mogen niet worden vermengd.
- Gebruik geen reagenspakketten waarvan de houdbaarheidsdatum is verstreken.

GEVAAR: QMS Tacrolimus-analyse bevat ≤3,0% menselijke serumalbumine (HSA) en ≤1,0% medicijnspecifiek antilichaam (konijn).

QMS Tacrolimus-extractiereagens bevat ≤9,0% zinksulfaat (ZnSO₄).

H317 - Kan een allergische huidreactie veroorzaken.

H334 - Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken.

H318 - Veroorzaakt ernstige oogbeschadiging.

H411 - Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

Inademing van nevel of damp vermijden. Verontreinigde werkkleding mag de werkruimte niet verlaten. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oog- en gelaatsbescherming dragen. Bij ontoreikende ventilatie een geschikte adembescherming dragen. Bij contact met de huid: Met veel water en zeep wassen. **NA INADEMING:** Bij ademhalingsmoeilijkheden het slachtoffer in de frisse lucht brengen en laten rusten in een houding die het ademen vergemakkelijkt. Bij huidirritatie of uitslag: Een arts raadplegen. Bij ademhalingsmoeilijkheden: Een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen. Verontreinigde kleding wassen alvorens deze opnieuw te gebruiken. Inhoud/verpakking afvoeren naar een geschikte afvallocatie of recyclingbedrijf in overeenstemming met lokale/regionale/nationale/internationale regelgeving.

Voorkom lozing in het milieu. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oog- en gelaatsbescherming dragen. **BIJ CONTACT MET DE OGEN:** Voorzichtig spoelen met water gedurende een aantal minuten. Verwijder contactlenzen als u deze draagt en als dit gemakkelijk kan worden gedaan. Ga door met spoelen. Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen. Verzamel gelekt/gemorst materiaal. Inhoud/verpakking afvoeren naar een geschikte afvallocatie of recyclingbedrijf in overeenstemming met lokale/regionale/nationale/internationale regelgeving.

⚠ LET OP: Materialen van menselijke origine zijn getest op HIV1 en 2, hepatitis B en hepatitis C volgens een door een FDA goedgekeurde methode, en de resultaten waren negatief. Aangezien geen enkele testmethode echter het potentiële risico van infectie met absolute zekerheid kan uitsluiten, moet het materiaal even zorgvuldig worden behandeld als een patiëntmonster. In geval van blootstelling dienen de richtlijnen van de verantwoordelijke gezondheidsinstanties te worden gevolgd.

Reagentia die in de analysecomponenten worden gebruikt, bevatten ≤0,09% natriumazide. Vermijd contact met de huid en slijmvliezen. Raadpleeg het VIB voor aanvullende voorzorgsmaatregelen, gebruiksinstructies en de behandeling bij onbedoelde blootstelling.

SPECIMEN VERZAMELEN EN BEHANDELEN

- Alleen bloedspecimens die zijn verzameld in EDTA-buisjes mogen worden gebruikt. Volg bij alle verzamelbuisjes de instructies van de fabrikant op. Zorg ervoor dat de integriteit van het specimen behouden blijft vanaf het moment van verzamelen tot het uitvoeren van de analyse. Specimens moeten worden gelabeld met het moment van de bloedafname en de laatste toediening van het middel.
- Specimens moeten goed worden afgesloten en binnen zeven dagen worden geanalyseerd bij een opslagtemperatuur van 2-8 °C of binnen zes maanden bij een opslagtemperatuur van ≤ -20 °C.^{6,10-11} Voorkom herhaald invriezen en ontdoien. Voorkom dat monsters gaan schuimen.

PROCEDURE

Meegeleverde materialen

- QMS Tacrolimus-reagenspakket, [REF] 10015556

Vereiste, doch niet meegeleverde materialen

- QMS Tacrolimus-kalibratievloeistof, [REF] 10015573, CAL A: 1 x 4 mL, CAL B-F: 1 x 2 mL elk
- Producten voor kwaliteitscontrole
 - Aanbevolen materialen:
 - MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA-controles, LAAG, 280-Q: 4 x 4 ml elk
 - GEMIDDELD, 280-1: 4 x 4 ml elk
 - HOOG, 280-2: 4 x 4 ml elk
 - Neem voor andere commercieel verkrijgbare producten voor kwaliteitscontrole contact op met Thermo Fisher Scientific Technical Support
- Methanol, HPLC-kwaliteit (≥ 99,8% zuiverheid)
- Microcentrifugebuisjes met ronde bodem
- Geautomatiseerde klinische chemie-analyzer

Preparatie van monsters

Opmerking: Houd u bij controleproducten aan instructies en aanbevelingen in de pakketbijsluiter die specifiek zijn voor de leverancier (indien aanwezig).

Laat kalibratievloeistoffen en patiëntspecimens op kamertemperatuur komen vóór extractie. Kalibratievloeistoffen dienen voor gebruik minimaal 15-20 minuten te worden gemengd en patiëntspecimens dienen voor gebruik grondig te worden gemengd op kamertemperatuur. Meng kalibratievloeistoffen en patiëntspecimens goed door zachtjes te schudden (gebruik bij voorkeur een schudplateau). Voorkom dat zich belletjes vormen.

Preparatie van de extractieoplossing

1. Giet exact 10 mL extractiereagens op kamertemperatuur in een schone, droge, luchtdichte fles.
2. Voeg exact 40 mL methanol van HPLC-kwaliteit (≥ 99,8% zuiverheid) toe en schud zachtjes. Voorzie de fles van een etiket met de tekst "Tacrolimus extractieoplossing." Noteer de huidige datum en de houdbaarheidsdatum (twee weken vanaf de datum van aanmaak) op het etiket. Bewaar op kamertemperatuur.

Extractieprocedure voor monsters, kalibratievloeistoffen en controlemiddelen

HOUD U EXACT AAN DE STAPPEN HIERONDER MET HET OOG OP OPTIMALE RESULTATEN. EXTRACTEN MOETEN DIRECT NA DE EXTRACTIE WORDEN GEBRUIKT.

1. Prepareer microcentrifugebuisjes met een ronde bodem voor de extractie van monsters, kalibratievloeistoffen en controlemiddelen en voorzie deze van etiketten. Prepareer één microcentrifugebuisje voor elk monster.
2. Gebruik een pipet om exact 200 µL monster, kalibratievloeistof of controlematerialen af te meten in het van een etiket voorziene microcentrifugebuisje. Zuig het monster af met de pipet, veeg de punt van de pipet voorzichtig af aan de rand van het monsterflesje om een eventueel teveel te verwijderen en plaats het monster in de binnenwand van het microcentrifugebuisje.
Opmerking: Controleer de punt van de pipet om er zeker van te zijn dat deze geen belletjes bevat. Als de punt lucht bevat, kan dit tot onnauwkeurige metingen leiden.
3. Gebruik een pipet om exact 200 µL extractieoplossing af te meten in het microcentrifugebuisje. Als er meerdere monsters worden geprepareerd, wordt aanbevolen om een herhaalpipet te gebruiken om de juiste hoeveelheid extractiesolutie te bepalen. Verwijder eventuele luchtbelletjes in de punt van de pipet voordat u de extractieoplossing toevoegt.
4. Sluit het microcentrifugebuisje en vortex het onmiddellijk gedurende 15-30 seconden met maximale snelheid. Controleer of alle buisjes een homogeen mengsel bevatten. Als een niet goed gemengd monster wordt gevonden, maak het niet-gemengde gedeelte dan los en vortex opnieuw.
5. Laat het mengsel gedurende 5-7 minuten bij kamertemperatuur in het microcentrifugebuisje zitten.
6. Plaats het microcentrifugebuisje in een centrifuge en centrifugeer gedurende 5 minuten bij een RPM-equivalent van 15.000 – 16.000 xg.
7. Decanteer de bovendrijvende vloeistof in een monsterbekertje (voorkom dat zich belletjes vormen) en voer de meting uit om verdamping van het monster te minimaliseren. U kunt voorzichtig tegen het bekertje tikken om de laatste druppel eruit te krijgen.
8. Gooi extracten na de analyse weg. Als u het monster nogmaals wilt testen, moet u nieuwe extracten gebruiken.

Opmerking: Aanvullende tips en aanbevelingen voor stappen voor monsterextractie voor de QMS Tacrolimus-analyse zijn ook verkrijgbaar bij Thermo Fisher Scientific Technical Support.

Analyseprocedure

Gedetailleerde informatie over het kalibreren en uitvoeren van een analyse kunt u vinden in de instrumentspecifieke gebruikershandleiding.

Verdunningsprocedure voor specimen

Gebruik QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/mL) om monsters handmatig te verdunnen buiten de lineariteit van de analyse.

Protocol voor handmatige verdunning

Patiëntmonsters met een hogere tacrolimusconcentratie dan 30 ng/mL kunnen handmatig worden verdund door het specimen 1:1 te verdunnen met QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/mL) alvorens het monster te extraheren. De verdunning moet zo worden uitgevoerd dat de testresultaten van het verdunde monster een hogere waarde opleveren dan de analysegevoeligheid van 1 ng/mL. De resulterende concentratie moet worden vermenigvuldigd met de handmatige-verdunningsfactor om de uiteindelijke concentratie in het monster te verkrijgen.

Uiteindelijke concentratie in monster = resulterende concentratie x handmatige-verdunningsfactor

Handmatige-verdunningsfactor = (volume van monster + volume van CAL A) ÷ volume van monster

KALIBRATIE

De QMS Tacrolimus-analyse moet worden gekalibreerd aan de hand van een volledige kalibratieprocedure (6-punts). Test de QMS Tacrolimus-kalibratievloeistoffen A, B, C, D, E en F om een volledige kalibratie uit te voeren. Bij de QMS Tacrolimus-analyse mogen alleen QMS Tacrolimus-kalibratievloeistoffen worden gebruikt. Een nauwkeurige kwantitatieve bepaling van tacrolimus kan niet worden verkregen als het pakket QMS Tacrolimus-kalibratievloeistoffen, [REF] 10015573, niet wordt gebruikt bij het kalibreren van de QMS Tacrolimus-analyse.

Kalibratie is vereist voor elk pakket met een nieuw partijnummer. Controleer de kalibratiecurve op ten minste één monster op elk controleniveau, in overeenstemming met de geldende vereisten voor kwaliteitscontrole in uw laboratorium. Als de resultaten van de controle buiten het geaccepteerde werkingsgebied vallen, moet corrigerende actie worden ondernomen.

Kalibratiefrequentie

Herkalibratie wordt aanbevolen

- Na het veranderen van het pakket kalibratievloeistoffen of reagentia
- Na het uitvoeren van maandelijks instrumentenonderhoud
- Zoals vereist is na de kwaliteitscontroleprocedures

KWALITEITSCONTROLE

Alle vereiste maatregelen voor kwaliteitscontrole moeten worden uitgevoerd in overeenstemming met de plaatselijke, regionale en/of landelijke regels of accreditatievereisten.

Raadpleeg, indien nodig, de standaard werkprocedure(s) en/of het kwaliteitborgingsplan van uw laboratorium voor aanvullende kwaliteitsbeheersingsvereisten en mogelijke corrigerende acties.

Aanbevolen controlevereisten voor de QMS Tacrolimus-analyse:

- Er moet ten minste één monster van elk controleniveau worden genomen elke keer dat extractie en analyse van patiëntmonsters plaatsvindt.
- Als kwaliteitscontrole vaker nodig is, moet u de geldende vereisten voor kwaliteitscontrole in uw laboratorium toepassen.
- Alle vereiste maatregelen voor kwaliteitscontrole moeten worden uitgevoerd in overeenstemming met de plaatselijke, regionale en/of landelijke richtlijnen of accreditatievereisten.
- Als de resultaten van de controle buiten het geaccepteerde werkingsgebied vallen dat in uw laboratorium wordt gehanteerd, zijn de patiëntwaarden mogelijk niet betrouwbaar en mogen deze niet worden gerapporteerd. In dat geval moet corrigerende actie worden ondernomen.

RESULTATEN

De resultaten van de QMS Tacrolimus-analyse worden weergegeven in ng/mL.

Resultaten rapporteren: Laboratoria dienen te rapporteren dat de resultaten zijn verkregen met de QMS Tacrolimus-methode.

Foutcodes voor resultaten:

Sommige resultaten bevatten mogelijk foutcodes. Een verklaring van de foutcodes kunt u vinden in de instrumentspecifieke gebruikershandleiding.

BEPERKING VAN DE PROCEDURE

- De concentraties tacrolimus in een bepaald specimen die worden vastgesteld met analyses van verschillende fabrikanten, kunnen variëren als gevolg van verschillen in analysemethoden en de specificiteit van reagentia. Daarom wordt consistent gebruik van één analysemethode aanbevolen.
- **Immunoanalyses zijn niet-specifiek en gaan kruisreacties aan met metabolieten. Hierdoor is het mogelijk dat bij de analyses de concentratie tacrolimus te hoog wordt ingeschat (zie de sectie Methodevergelijking). Als de eliminatie van tacrolimus wordt gehinderd, kunnen zich meer metabolieten verzamelen, wat tot een hogere overschatting leidt. In zulke gevallen dient gebruik van een specifieke analyse (bijvoorbeeld chromatografie) te worden overwogen.**
- Interfererende heterofiele antistoffen komen met een lage frequentie voor in de populatie. Deze antistoffen kunnen foutieve resultaten als gevolg hebben (zoals foutieve lage resultaten veroorzaakt door agglutinatie van het micropartikelreagens).

- De testresultaten moeten altijd worden beoordeeld in combinatie met de anamnese en klinische-onderzoeksresultaten van de patiënt, plus andere bevindingen. Als de resultaten niet consistent zijn met klinische bevindingen, moeten aanvullende tests worden uitgevoerd om de resultaten te bevestigen.
- Raadpleeg de PROGRAF-bijsluiter in verband met effecten van gelijktijdig toegediende middelen en middelen die de concentraties tacrolimus kunnen verhogen of verlagen.¹⁴

VERWACHTE WAARDEN

Het optimale therapeutische werkingsgebied voor tacrolimus in het bloed is met deze analyse niet vastgesteld. De therapeutische werkingsgebieden voor tacrolimus kunnen variëren, afhankelijk van klinische factoren of de gebruikte methode.

Gezien het heterogene karakter van de klinische toestand van de patiënt zouden artsen een gewenst therapeutisch werkingsgebied moeten vaststellen op basis van hun eigen ervaring en de klinische behoeften van elke patiënt. Veranderingen in de behandeling mogen niet uitsluitend op tacrolimuswaarden worden gebaseerd. Verschillen in gevoeligheid van immunosuppressieve en nefrotoxische effecten van tacrolimus, gelijktijdige toediening van andere immunosuppressiva, het soort transplantatie, de verstreken tijd sinds de transplantatie, plus een aantal andere factoren brengen verschillende vereisten voor de optimale concentratie van tacrolimus in het bloed met zich mee.

De optimale concentraties kunnen variëren (afhankelijk van de gebruikte test) en moeten daarom voor elke commerciële test worden vastgesteld. Waarden die aan de hand van verschillende analysemethoden zijn verkregen, kunnen niet onderling worden uitgewisseld vanwege de verschillen in de methodes en kruisreacties met metabolieten. Er mogen bovendien ook geen correctiefactoren worden toegepast. Aanbevolen wordt om één consistente analyse toe te passen voor individuele patiënten.

SPECIFIEKE PRESTATIEKENMERKEN

Hieronder worden representatieve prestatieresultaten vermeld die zijn verkregen met een in de handel verkrijgbare geautomatiseerde klinische chemie-analyzer die gebruikmaakt van turbidimetrische kwantitatieve analyse. Tenzij anders is aangegeven, zijn alle analyses uitgevoerd overeenkomstig de hier gegeven analyseprocedure met behulp van de Beckman AU680-analyzer. Resultaten die in individuele laboratoria zijn verkregen, kunnen van deze gegevens afwijken. Raadpleeg het gebruiksprotocol voor de specifieke analyzer of neem contact op met Thermo Fisher Scientific Technical Support voor aanvullende prestatiegegevens van specifieke analyzers.

Rapporteerbaar bereik

Het rapporteerbare bereik voor de QMS Tacrolimus-analyse is 1 ng/mL (minimumwaarde voor rapporteerbaar bereik op basis van functionele analysegevoeligheid) tot 30 ng/mL tacrolimus.

Functionele analysegevoeligheid (LOQ, Limit of Quantitation, bepaalbaarheids grens)

De functionele gevoeligheid is de laagste concentratie tacrolimus die kan worden gemeten met een precisie tussen analyses bij 20% CV. De studie is uitgevoerd met bloedspecimens versneden met tacrolimus in een bereik van 0,5 tot 5,0 ng/mL voor één meting per test, tweemaal daags, gedurende 30 dagen, met een totaal van 60 gegevenspunten. Bij de bovenste betrouwbaarheids grens van 95% is de LoQ (Limit Of Quantitation; bepaalbaarheids grens) berekend als 0,9 ng/mL, wat de lagere analyseslimiet van 1,0 ng/mL ondersteunt. Het waargenomen percentage herstel bij 0,9 ng/mL is 102,0%.

Lineariteit van de verdunning

Er is een lineariteitsstudie gedaan door een monster met een hoge concentratie tacrolimus te verdunnen met QMS Tacrolimus-kalibratievloeistof A tot concentraties die gelijkelijk waren verdeeld over het analysebereik. Het percentage terugwinning is bepaald door de gemeten concentratie tacrolimus te delen door de verwachte concentratie. De verwachte concentraties zijn bepaald door de geteste hoge concentratie te vermenigvuldigen met een verdunningsfactor.

Hoog monster-percentage	Verwachte concentratie (ng/mL)	Gemeten concentratie (ng/mL)	Terugwinningspercentage
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%

Vervolg van tabel

Hoog monster-percentage	Verwachte concentratie (ng/mL)	Gemeten concentratie (ng/mL)	Terugwinningspercentage
2,8%	0,8	0,8	99,6%
0,0%	0,0	0,0	n.v.t.

Verwachte concentratie = hoog monsterpercentage x hoge gemeten concentratie

Terugwinningspercentage = gemeten concentratie ÷ verwachte concentratie x 100

Terugwinning

Negatieve bloedmonsters zijn versneden met bekende hoeveelheden tacrolimus bij concentraties in het gehele analysebereik. De concentraties tacrolimus van deze monsters zijn geverifieerd door een LC-MS/MS en getest met de QMS Tacrolimus-analyse. Hieronder ziet u de resultaten.

Monster-ID	n	Verwachte concentratie (ng/mL)	Gemeten concentratie (ng/mL)	% terugwinning
Monster 1	21	2,7	2,7	101,8
Monster 2	21	9,8	10,8	109,4
Monster 3	21	18,0	17,7	98,2
Monster 4	21	19,8	21,3	107,5
Monster 5	21	27,0	27,1	100,4

Terugwinningspercentage = (gemeten concentratie ÷ verwachte concentratie) x 100

Nauwkeurigheid

De nauwkeurigheid is geëvalueerd met behulp van verzamelde bloedmonsters van patiënten en versneden monsters. De studie is uitgevoerd zoals beschreven in CLSI-protocol EP5-A2.¹⁵ Elk monster is geanalyseerd in duplicaten per test, tweemaal daags gedurende 20 dagen. De gemiddelde waarden, de waarden tijdens de test en de totale SD en CV (%) zijn berekend. Hieronder ziet u de representatieve resultaten.

Monsters	n	Gemiddelde (ng/mL)	Tijdens test		Totale test	
			SD	% CV	SD	% CV
Versneden monster A	80	3,0	0,2	4,9%	0,2	7,1%
Versneden monster B	80	10,0	0,2	1,9%	0,4	3,6%
Versneden monster C	80	20,9	0,4	1,9%	1,1	5,0%
Patiëntmonster A	80	3,2	0,1	4,1%	0,2	6,2%
Patiëntmonster B	80	10,4	0,2	2,2%	0,4	3,6%
Patiëntmonster C	80	24,2	0,5	2,1%	1,1	4,6%

Methodevergelijking

Er zijn correlatiestudies gedaan om de QMS Tacrolimus-analyse te vergelijken met twee LC-MS/MS-methoden (System 1 en System 2) en de Abbott ARCHITECT® Tacrolimus-analyse. In de studies zijn EDTA-specimens menselijk bloed gebruikt afkomstig van patiënten die een nier-, lever- of harttransplantatie hadden ondergaan en tacrolimus gebruikten. Alle geteste specimens waren nulwaardemonsters afkomstig van hoofdzakelijk volwassen patiënten; de tijd na de transplantatie voor de monsters was in het algemeen > 9 maanden. De geteste patiënten kregen alleen Tacrolimus of Tacrolimus in combinatie met één ander immunosuppressivum, hoofdzakelijk Mycophenolate Mofetil (MMF), Mycophenolic Acid (MPA) of corticosteroiden. De resultaten van de Deming-regressieanalyse¹⁶ tussen de verschillende methoden worden in de tabel hieronder weergegeven.

Vergelijkende methode	n	Hellingsgraad (95% CI*)	Snijpunt (95% CI)	Correlatiecoëfficiënt (R)
LC-MS/MS System 1	383	1,111 (1,084 tot 1,137)	0,53 (0,31 tot 0,76)	0,972
LC-MS/MS System 2	232	1,130 (1,092 tot 1,167)	0,71 (0,42 tot 1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT Tacrolimus-analyse	208	1,126 (1,071 tot 1,181)	-0,03 (-0,63 tot 0,56)	0,937

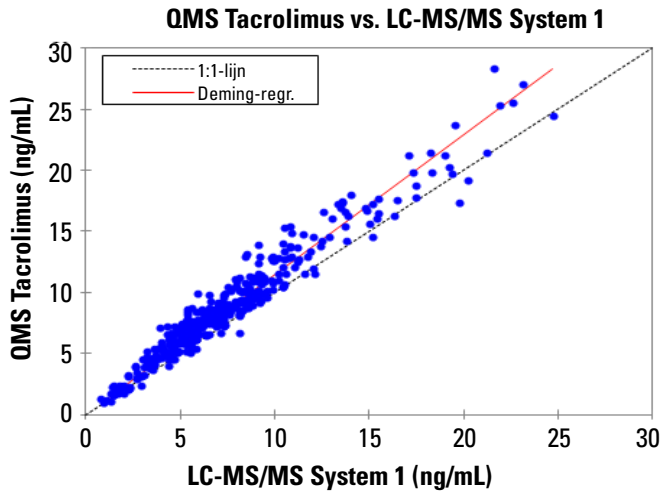
*Betrovingsintervall (BI)

Bereik QMS Tacrolimus-specimen: 1,0 tot 30,8 ng/mL

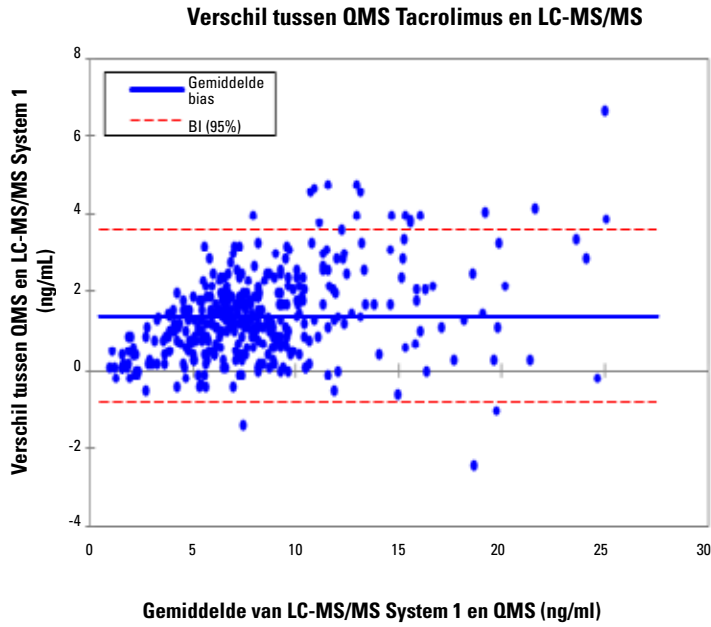
Bereik LC-MS/MS-specimen 0,8 tot 29,5 ng/mL

Bereik ARCHITECT Tacrolimus-specimen: 2,4 tot 28,1 ng/mL

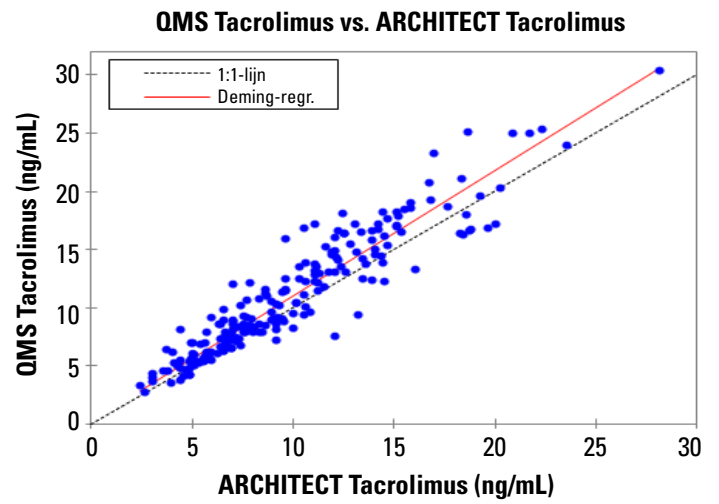
Spreidingsdiagram voor resultaten van QMS Tacrolimus vs. LC-MS/MS System 1 voor gecombineerde nier-, lever- en harttransplantatiemonsters.



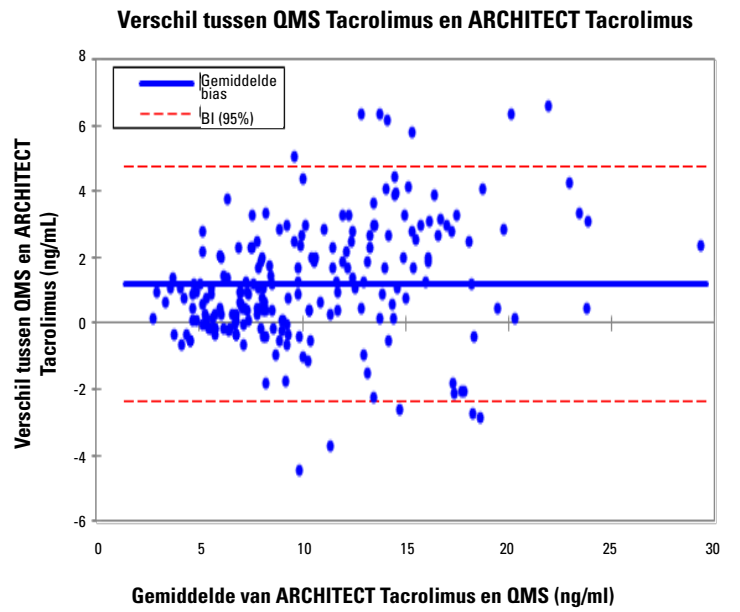
Bland-Altman bias plot¹⁷ voor resultaten van QMS Tacrolimus vs. LC-MS/MS System 1 voor gecombineerde nier-, lever- en harttransplantatiemonsters. De gemiddelde bias wordt berekend als het gemiddelde verschil tussen de resultaten van de QMS Tacrolimus-analyse en LC-MS/MS System.



Spreidingsdiagram voor resultaten van QMS Tacrolimus vs. Abbott ARCHITECT Tacrolimus voor gecombineerde nier-, lever- en harttransplantatiemonsters.



Bland-Altman bias plot¹⁷ voor resultaten van QMS Tacrolimus vs. Abbott ARCHITECT Tacrolimus-analyse voor gecombineerde nier-, lever- en harttransplantatiemonsters. De gemiddelde bias wordt berekend als het gemiddelde verschil tussen de resultaten van de QMS Tacrolimus-analyse en ARCHITECT Tacrolimus.



Specificiteit

De specificiteitsonderzoeken zijn uitgevoerd met CLSI-protocol EP7-A2 als richtlijn.¹⁸ Voor de beschikbare belangrijke metabolieten van tacrolimus zijn kruisreacties getest. Er zijn tevens andere medicaties getest die in de regel samen met tacrolimus worden toegediend, om vast te stellen of deze verbindingen invloed hebben op het meten van tacrolimus aan de hand van de QMS Tacrolimus-analyse.

Het percentage kruisreacties van metabolieten is berekend aan de hand van de formule:

$$\text{Percentage kruisreacties} = \frac{\text{Gemeten concentratie} - \text{verwachte concentratie}}{\text{Concentratie van kruisreacties}} \times 100$$

Kruisreacties met metabolieten van tacrolimus

De kruisreacties van de QMS Tacrolimus-analyse met de belangrijkste metabolieten van tacrolimus worden in de volgende tabel getoond. De geteste verbindingen zijn toegevoegd aan menselijke bloedmonsters met twee concentraties van het middel tacrolimus en zijn getest in replicaties van drie. Hierna werd het percentage kruisreacties berekend.

Metabolieten van tacrolimus	Concentratie metaboliet (ng/mL)	Verwachte concentratie (ng/mL)	Gemeten concentratie (ng/mL)	% terugwinning	Percentage kruisreacties
M-I (13-O-demethyl)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-demethyl)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-demethyl)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-hydroxy)	3,5	14,6	18,7	128,1	117,1
	3,3	21,2	27,0	127,4	174,8
	20	5,0	6,1	122,0	5,7
	20	12,0	14,1	117,5	10,5
M-VII (13,15-O-didemethyl)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-didemethyl) + M-VI (13,31-O-didemethyl)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Terugwinningspercentage = gemeten concentratie ÷ verwachte concentratie) x 100

Het waargenomen percentage kruisreacties van tacrolimusmetaboliet M-IV was ≤ 174,8%. Tacrolimusmetaboliet M-V en M-VIII zijn niet onderzocht op mogelijk kruisreacties.

Patiëntmonsters van tacrolimus bevatten lage concentraties tacrolimusmetabolieten in vergelijking met de moederverbinding, met ongeveer 6% M-I, 15% M-II, 6% M-III en vrijwel geen M-IV.^{9,12,19}

Interfererende substanties

Er zijn interferentieonderzoeken uitgevoerd met CLSI-protocol EP7-A2 als richtlijn.¹⁸ De QMS Tacrolimus-analyse is getest met middelen die tegelijkertijd met tacrolimus werden toegediend en met veelgebruikte middelen, om te bekijken of er mogelijk sprake is van interferentie. De geteste verbindingen werden toegevoegd aan monsters van menselijk bloed die 5 en 12 ng/mL van het middel tacrolimus bevatten en vervolgens getest aan de hand van QMS Tacrolimus-analyse. Terugwinning van een concentratie tacrolimus met een fout van meer dan 10% werd beschouwd als interferentie met de analyse. De geteste verbindingen bij de concentraties die in de tabel hieronder worden genoemd, vertonen geen interferentie met de analyse. Het gemiddelde percentage teruggewonnen tacrolimus lag tussen 91% en 109%.

Verbinding	Concentratie (ng/mL)	Verbinding	Concentratie (ng/mL)
Paracetamol	200000	Kanamycine B-sulfaat	100000
Acycloguanisine/Acyclovir	1000000	Ketoconazol	100000
Allopurinol	50000	Labetalol	17100
Amikacinesulfaat	150000	Lidocaïne	100000
Amfotericine B	100000	Lithium	35000
Ampicilline	100000	Lovastatine	20000
Apresoline/Hydralazine	100000	Methylprednisolon	100000
Atenolol	40000	Metoclopramide	100000
Azathioprine	100000	Minoxidil	60000
Azithromycine	5000	Morfinesulfaat	100000
Bromocriptine/2-Bromo-α-ergocryptine	8000	Mycofenolzuur	100000
Carbamazepine	120000	N-Acetylprocaïnamide	120000

Vervolg van tabel

Verbinding	Concentratie (ng/mL)	Verbinding	Concentratie (ng/mL)
Cefazoline	150000	Nadolol	1200
Ceftriaxon	500000	Naproxen	100000
Cephalosporine C	100000	Nicardipine	500
Chloorpromazine	50000	Nicotine	20000
Chloramphenicol	250000	Nifedipine	100000
Chloordiazepoxide	20000	Penicilline G	100000
Chloroquine	1500	Pentobarbital	100000
Cimetidine	100000	Fenobarbital	150000
Ciprofloxacin	7400	Fenytoïne	100000
Clarithromycine	5000	Prazosine	100000
Clonidine	100	Prednisolon	100000
Colchicine	90	Prednison	100000
Cortison	1200	Primidon	100000
Cyclosporine/Cyclosporine A	10000	Probucol	600000
Diazepam	20000	Procaïnamide	100000
Digitoxine	100000	Propoxyfeen	4000
Digoxine	10000	Propranolol	40000
Diltiazem	60000	Quinidine	100000
Disopyramide	100000	Ranitidine	200000
Erythromycine	200000	Rifampine/Rifampicine	100000
Ethosuximide	300000	Salicylzuur	500000
Everolimus	100	Sirolimus (Rapamycine)	300
Famotidine	10000	Spectinomycine	100000
Fluconazol	100000	Streptomycine	100000
Flucytosine/5-Fluorocytosine	40000	Sulfamethoxazol	150000
Furosemide	100000	Theophylline	250000
Ganciclovir	1000000	Ticlopidine	150000
Gemfibrozil	100000	Tobramycine	100000
Gentamicine	120000	Triamtereen	100000
Hydrochloorthiazide	40000	Trimethoprim	40000
Hydrocortisol	100000	Valproïnezuur	500000
Ibuprofen	400000	Vancomycine	100000
Itraconazol	100000	Verapamil	100000
Kanamycine A-sulfaat	100000		

De volgende, mogelijk interfererende endogene substanties vertoonden bij de aangegeven concentraties een terugwinningspercentage van 92% tot 108% bij tests met de QMS Tacrolimus-analyse.

Mogelijk interfererende substantie	Concentratie
Albumine	12 g/dL
Bilirubine	60 mg/dL
Cholesterol	500 mg/dL
Creatinine	5 mg/dL
Triglyceride	1500 mg/dL
Urinezuur	20 mg/dL
IgG gammaglobuline	12 g/dL
Reumafactor	500 IU/mL
HAMA*	400 ng/mL
Hematocriet	12% - 64%

*HAMA = human anti-mouse antibodies

BIBLIOGRAFIE

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.

Verklarende woordenlijst:

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



Fabrikant:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Gratis nummer in de VS: 800-626-0690



**Geautoriseerd
EU-vertegenwoordiger:**
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Klantenservice

Gratis nummer in de VS: 1-800-232-3342
Overige landen: Neem contact op met uw lokale Microgenics-vertegenwoordiger.

Bio-Rad Lyphocheck® is een gedeponeerd handelsmerk van Bio-Rad®.
MORE Diagnostics Controls zijn het eigendom van MORE Diagnostics, Inc.
ARCHITECT is een gedeponeerd handelsmerk van Abbott Laboratories®.
Alle overige handelsmerken zijn het eigendom van Thermo Fisher Scientific Inc. en haar dochterondernemingen.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle rechten voorbehouden.



Bijsluiteren zijn beschikbaar op:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-12-NL
2021 01

**thermo
scientific**