

Rx Only

Kun for *in vitro*-diagnostikk

**REF** 10015556

Les dette pakningsvedlegget for Quantitative Microsphere System (QMS – kvantitativt mikrokulesystem) nøye før bruk. Følg instruksjonene i pakningsvedlegget. Pålitelige analyseresultater kan ikke garanteres hvis det forekommer avvik fra instruksjonene i dette pakningsvedlegget.

## TILTENKT BRUK

QMS Tacrolimus Immunoassay er beregnet for kvantitativ fastsettelse av takrolimus i humant fullblod på automatiske analyseapparater for klinisk kjemi. Resultatene som blir innhentet, brukes som en støtte i pleien av nyre- lever- og hjertetransplantasjonspasienter som blir behandlet med takrolimus. Denne enheten til *in vitro*-diagnostikk er kun beregnet for bruk i kliniske laboratorier.

## SAMMENDRAG OG FORKLARING AV TESTEN

Takrolimus (FK506, PROGRAF<sup>®</sup>) er et makrolidantibiotikum fremstilt fra sopp, *Streptomyces tsukubaensis*, med en potent immunosuppressiv funksjon når den foreskrives til pasienter med nyre- eller levertransplantasjon.<sup>1</sup> Takrolimus er en calcineurinhemmer, som er en fosfatase av natur og aktiverer T-celleproliferasjon.<sup>2,4</sup> Ved cellulære hendelser binder takrolimus en familie av bindingsproteiner som kalles FKBP-er (FK506-bindingsproteiner), og danner deretter et pentamerkompleks som omfatter takrolimus, FKBP, calcineurin A og B samt calmodulin.<sup>2,5</sup> Pentamerdannelsen fører til hemming av fosfataseaktivitet hos calcineurin, som er nødvendig for å aktivere transkripsjonsfaktorer for tranport inn i cellekjernen. Dermed blir den genetiske manifestasjonen av T-lymfocytter hemmet, spesielt for cytokiner som IL-2, og fører til en immunosuppressiv virkning hos pasienter.<sup>2,5</sup>

Fordelingen av takrolimus mellom fullblod og plasma avhenger av flere faktorer som hematokrit, legemiddelkonsentrasjon og plasmaproteinkonsentrasjon. Forholdet mellom konsentrasjonen i fullblod og plasma var 35 i gjennomsnitt (område 12 til 67).<sup>6,7</sup> Takrolimus blir i stor grad metabolisert av cytokrom P-450-systemet, i hovedsak CYP3A.<sup>8-11</sup> Legemidlet blir metabolisert til minst 8 metabolitter (M-I – M-VIII) via demetylering og hydroksylering.<sup>12</sup> Den gjennomsnittlige halveringstiden til takrolimus *in vivo* er anslått til 48 timer.<sup>8-11</sup> Det ble også rapportert store variasjoner mellom pasienter og hos samme pasient i takrolimuskonsentrasjoner i fullblod.<sup>13</sup> Nøye og hyppig overvåkning av takrolimus anbefales.<sup>14</sup>

## PRINSIPPENE FOR PROSEDYREN

QMS Tacrolimus Immunoassay er en homogen partikkelbasert turbidimetrisk immunanalyse. Analysen er basert på konkurranse mellom legemiddel i prøven og legemiddel som er festet på en mikropartikkel, for å danne antistoffbindingssteder for takrolimusantistoffreagensen. Den takrolimusbelagte mikropartikkelreagensen blir raskt agglutinert når antitakrolimusantistoffreagensen er til stede, og når konkurrerende legemiddel ikke er til stede. Absorbansendringshastigheten blir målt fotometrisk ved 700 nm. Når en prøve som inneholder takrolimus, blir tilført, blir agglutinasjonsreaksjonen delvis hemmet, og absorbansendringshastigheten blir lavere. En konsentrasjonsavhengig klassisk agglutinasjonshemmingskurve kan innhentes med maksimal agglutinasjonshastighet ved laveste takrolimuskonsentrasjon og laveste agglutinasjonshastighet ved høyeste takrolimuskonsentrasjon.

## REAGENSER

### Reagenssett

QMS Tacrolimus, **REF** 10015556, leveres som et væskebasert, bruksklart sett med tre reagenser. Settet inneholder:

**REAGENT 1** 1 x 18 ml

**REAGENT 2** 1 x 12 ml


**EXT** Ekstraksjonsreagens 1 x 50 ml (arbeidsløsning kreves, se side 2, Preparering av ekstraksjonsoppløsning)

### Reaktive innholdsstoffer

<b>INGRED</b>	<b>Innholdsstoff</b>	<b>Konsentrasjon</b>
<b>REAGENT 1</b>	Anti-takrolimus monoklonalt antistoff (kanin) Natriumazid	< 1,0 % 0,09 %
<b>REAGENT 2</b>	Takrolimusbelagte mikropartikler Natriumazid	< 0,3 % 0,09 %
<b>EXT</b>	Natriumazid	0,09 %

## HÅNDTERING OG OPPBEVARING AV REAGENSER

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** og **EXT** (ekstraksjonsreagens), bruksklar
- Vend flere ganger før bruk, og unngå dannelse av bobler.
- Fjern eventuelle luftbobler i reagenskassetten. Alternativt kan du la reagensen hvile ved den aktuelle oppbevaringstemperaturen og la boblene dissipere. Bruk ikke en overføringspipette til å fjerne boblene, da dette kan redusere volumet.
- Når enten **REAGENT 1**- eller **REAGENT 2**-kassetten blir tom, skal du bytte begge kassetten og verifisere kalibrering med minst én prøve av hvert kontrollnivå i samsvar med gjeldende krav til kvalitetskontroll for laboratoriet. Hvis kontrollresultater er utenfor akseptable områder, kan rekalkibrering være nødvendig.
- Se det analysatorspesifikke analysesystemparameterarket for systemspesifikk informasjon.
- Hvis du søler ved et uhell, må du gjøre rent og kaste materiale i samsvar med laboratoriets standardprosedyrer og lokale og nasjonale bestemmelser.
- Hvis emballasjen er skadet ved mottak, må du kontakte representanten for teknisk støtte (se baksiden av dette pakningsvedlegget).

**⚠ ADVARSEL:** Bobler i reagensen kan hindre riktig registrering av reagensnivået i kassetten og kan forårsake utilstrekkelig aspirering av reagens, som kan påvirke resultater.  Uåpnede reagenser er stabile frem til utløpsdatoen når de oppbevares ved 2 til 8 °C.

**Reagenser skal ikke fryses eller utsettes for temperaturer over 32 °C.**

## ⚠ ADVARSLER OG FORSIKTIGHETSREGLER

- Kun for *in vitro*-diagnostikk. Følg normale forsiktighetsregler som gjelder for all håndtering av laboratoriereagenser.
- Ikke bland materialer fra sett med ulike lotnummer.
- Ikke bruk reagenssett etter utløpsdatoen.

**FARE:** QMS Tacrolimus Immunoassay inneholder ≤3,0 % humant serumalbumin (HSA) og ≤1,0 % rusmiddelspesifikt antistoff (kanin).

QMS Tacrolimus Extraction-reagensen inneholder ≤9,0 % sinkulfat (ZnSO<sub>4</sub>).

H317 - Kan utløse en allergisk hudreaksjon.

H334 - Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding.

H318 - Gir alvorlig øyeskade.

H411 - Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann.

Unngå innånding av tåke/damp. Tilsølte arbeidsklær må ikke fjernes fra arbeidsplassen. Benytt vernehansker/vernebriller/ansiktsskjerm. Ved utilstrekkelig ventilasjon skal åndedrettsvern benyttes. VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann. VED INNÅNDING: Hvis det blir tungt å puste, skal offeret bæres ut i frisk luft og legges i en hvilestilling som gjør det komfortabelt å puste. Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. Ved symptomer i luftveiene: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege. Tilsølte klær må vaskes før de brukes på nytt. Innhold/beholder skal avhendes i henhold til lokale/regionale/nasjonale/internasjonale bestemmelser.

Unngå utslipp til miljøet. Benytt vernehansker/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser hvis dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege. Søtt væske må samles opp. Innhold/beholder skal avhendes i henhold til lokale/regionale/nasjonale/internasjonale bestemmelser.

**⚠ ADVARSEL:** Materialer med humant opphav ble testet for HIV1 og 2 samt hepatitt B og hepatitt C med FDA-godkjente metoder, og funnene var negative. Siden ingen testmetode med absolutt sikkerhet kan utelukke potensiell risiko for infeksjon, skal imidlertid materialet behandles like forsiktig som en pasientprøve. Ved eksponering skal retningslinjene til ansvarlige helsemyndigheter følges.

Reagenser som brukes i analysekomponentene, inneholder ≤ 0,09 % natriumazid. Unngå kontakt med hud og slimhinner. Se SDS for ytterligere forholdsregler, anbefalinger for håndtering og behandling ved utilsiktet eksponering.

## INNHENTING OG HÅNDTERING AV PRØVER

- Kun fullblodprøver som er tappet i EDTA-rør kan brukes. Følg produsentens behandlingsinstruksjoner for alle prøvetakingsrør. Vær nøye med å bevare integriteten til prøven fra innhentingsstidspunktet til analysen utføres. Prøver skal merkes både med tidspunktet for tapping av blod og siste legemiddeladministrasjon.
- Prøver skal oppbevares under lokk og analyseres innen 7 dager når de blir oppbevart ved 2–8 °C, eller innen 6 måneder når de oppbevares ved ≤ -20 °C.<sup>8,10-11</sup> Unngå gjentatt frysing og tining. Ikke fremkall skum i prøver.

## PROSEDYRE

### Materiell som følger med

- QMS Tacrolimus Reagent Kit, **[REF]** 10015556

### Nødvendig materiell som ikke følger med

- QMS Tacrolimus Calibrators, **[REF]** 10015573, CAL A: 1 x 4 ml, CAL B-F: 1 x 2 ml per stk.
- Kvalitetskontrollprodukter
  - Materiell som anbefales:
    - MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA Controls, LOW, 280-Q: 4 x 4 ml per stk.
    - MID, 280-1: 4 x 4 ml per stk.
    - HIGH, 280-2: 4 x 4 ml per stk.
  - For andre kommersielt tilgjengelige kvalitetskontrollprodukter, kontakt teknisk støtte hos Thermo Fisher Scientific
- Metanol, HPLC-standard (≥ 99,8 % ren)
- Mikrosentrifugerør med rund bunn
- Automatisert analyseapparat for klinisk kjemi

### Prøvepreparering

Merknad: Følg leverandørsesifikke instruksjoner i pakningsvedlegg samt eventuelle anbefalinger for håndtering for kontrollmidler.

La kalibreringsmidler og pasientprøver oppnå romtemperatur før ekstraksjon. Kalibreringsmidler skal blandes minst 15–20 minutter, og pasientprøver skal blandes grundig ved romtemperatur før bruk. Bland kalibreringsmidler og pasientprøver godt med forsiktig vending (bruk av en vugge foretrekkes). Unngå dannelse av bobler.

### Preparering av ekstraksjonsoppløsning

1. Tilfør nøyaktig 10 ml av ekstraksjonsreagens med romtemperatur til en ren, tørr, lufttett flaske.
2. Tilfør nøyaktig 40 ml av HPLC-standard metanol (≥ 99,8 % ren) til flasken, og bland forsiktig. Merk denne som "Takrolimus-arbeidsekstraksjonsoppløsning". Noter gjeldende dato og utløpsdato (2 uker fra prepareringsdatoen) på etiketten. Oppbevar ved romtemperatur.

### Ekstraksjonsprosedyre for prøver, kalibreringsmidler og kontrollmidler

FØLG TRINNENE NEDENFOR FOR OPTIMALE RESULTATER. EKSTRAKTER MÅ KJØRES UMIDDELBART ETTER EKSTRAKSJON.

1. Klargjør og merk mikrosentrifugerør med rund bunn for ekstraksjon av prøver, kalibratorer og kontrollmidler. Klargjør ett mikrosentrifugerør for hver prøve.
2. Bruk en pipette til å måle opp nøyaktig 200 µl av prøve, kalibrator eller kontrollmiddel, og tilfør til det merkede mikrosentrifugerøret. Aspirer prøven med pipetten, tørk av pipettespissen forsiktig på kanten av prøveglasset for å fjerne overflødig prøve, og dispenser deretter prøven på den innvendige veggen av mikrosentrifugerøret.  
**Merknad:** Kontroller pipettespissen for å sikre at det ikke er luftbobler i spissen. Luft i spissen er en mulig kilde til unøyaktighet.
3. Bruk en pipette til å måle opp nøyaktig 200 µl av ekstraksjonsoppløsning, og tilfør til mikrosentrifugerøret. Ved preparering av flere prøver anbefales en repetisjonspipette for å aspirere og dispensere ekstraksjonsoppløsningen. Fjern eventuelle luftbobler i pipettespissen før ekstraksjonsoppløsningen dispenseres.
4. Sett på lokk, og kjør mikrosentrifugerøret på en vortex-blander med maksimal hastighet i 15–30 sekunder. Kontroller at blandingen i hvert rør er homogen. Hvis du oppdager prøve som ikke er blandet, løsner du delen som ikke er blandet og bruker vortex-blander på nytt.
5. La blandingen i mikrosentrifugerøret hvile i 5–7 minutter ved romtemperatur.
6. Plasser mikrosentrifugerøret i en sentrifuge og sentrifuger i 5 minutter ved en rpm som svarer til 15 000–16 000 x g.
7. Hell av supernatanten i et prøvebeholder (unngå dannelse av bobler), og kjør målingen umiddelbart for å minimere fordampning av prøve. Ikke bank på begeret for å få ut den siste dråpen på en måte som kan forstyrre bunnfallet.
8. Kast ekstrakter etter analysen. Ny testing av prøver krever ferske ekstrakter.

**Merknad:** Du kan også få flere tips og anbefalinger om prøveekstraksjonstrinn for QMS Tacrolimus Immunoassay fra teknisk støtte hos Thermo Fisher Scientific.

### Analyseprosedyre

Du finner en detaljert beskrivelse av hvordan du gjennomfører og kalibrerer analyser, i den instrumentspesifikke brukerhåndboken.

## Prosedyre for fortynning av prøvemateriale

Bruk QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml) til å fortynne prøver manuelt utenfor det lineære området for analysen.

### Protokoll for manuell fortynning

Du kan fortynne pasientprøver med rapporterte takrolimuskonsentrasjoner større enn 30 ng/ml manuelt ved å fortynne prøvematerialet 1 : 1 med QMS Tacrolimus CAL A (0,0 ng/ml) før prøven ekstraheres. Fortynningen må utføres slik at testresultatet for fortynningen har større verdi enn analysefølsomheten på 1 ng/ml. Den rapporterte konsentrasjonen må multipliseres med faktoren for manuell fortynning for å gi den endelige prøvekonsentrasjonen.

Endelig prøvekonsentrasjon = rapportert konsentrasjon x faktor for manuell fortynning

Faktor for manuell fortynning = (volum av prøve + volum av CAL A) / volum av prøve

## KALIBRERING

QMS Tacrolimus Immunoassay må kalibreres med en prosedyre for full kalibrering (6 punkter). Utfør en full kalibrering va å teste QMS Tacrolimus Calibrators A, B, C, D, E og F. Bare QMS Tacrolimus Calibrators skal bruke sammen med QMS Tacrolimus Immunoassay. Nøyaktig kvantitativ fastsettelse av takrolimus kan ikke oppnås hvis QMS Tacrolimus Calibrators set, **[REF]** 10015573, ikke brukes til kalibrering av QMS Tacrolimus Immunoassay.

Kalibrering er nødvendig for hvert nytt lotnummer. Verifiser kalibreringskurven med minst én prøve av hvert nivå av kontrollmidler i samsvar med gjeldende krav til kvalitetskontroll for laboratoriet. Hvis kontrollresultater er utenfor akseptable områder, skal det treffes korrigerings tiltak.

### Kalibreringshyppighet

Rekalibrering anbefales

- etter bytte av kalibrator eller reagens(ett)lot
- etter gjennomføring av månedlig instrumentvedlikehold
- i henhold til gjeldende kvalitetskontrollprosedyrer

## KVALITETSKONTROLL

Alle påkrevde kvalitetskontroller skal utføres i samsvar med lokale, regionale og/eller nasjonale bestemmelser eller godkjenningsskrav.

Ved behov for ytterligere krav til kvalitetskontroll og mulige korrigerings tiltak bruker du laboratoriets standardprosedyrer og/eller kvalitetssikringsplan.

Anbefalte kontrollkrav for QMS Tacrolimus Immunoassay:

- Minst én prøve på hvert kontrollnivå skal kjøres hver gang pasientprøver blir ekstrahert og analysert.
- Hvis hyppigere kontrollovervåking er nødvendig, skal de etablerte kvalitetskontrollprosedyrene for laboratoriet følges.
- Alle kvalitetskontrollkrav skal innfris i samsvar med lokale og/eller nasjonale retningslinjer.
- Hvis kvalitetskontrollresultater ikke faller innenfor et akseptabelt område som laboratoriet har fastsatt, kan pasientverdier være tvilsomme og skal ikke rapporteres. Det skal treffes korreksjonstiltak.

## RESULTATER

Resultatene av QMS Tacrolimus Immunoassay oppgis i enheten ng/ml.

Rapportering av resultater: Laboratorier bør rapportere at resultatene er innhentet med QMS Tacrolimus-metoden.

### Resultatfeilkoder:

Noen resultater kan inneholde resultatfeilkoder. Du finner en beskrivelse av feilkodene i den instrumentspesifikke brukerhåndboken.

## BEGRENSNINGER I PROSEDYREN

- Konsentrasjoner av takrolimus i et gitt prøvemateriale fastsatt med analyser fra ulike leverandører kan variere på grunn av forskjeller i analysemetoder og reagensenes spesifisitet. Det anbefales å overvåke konsekvent med én analyse.
- **Immunanalyser er ikke-spesifikke og kryssreagerer med metabolitter. Derfor kan immunanalyser overestimere konsentrasjonen av takrolimus (se delen Metodesammenligning). Når eliminering av takrolimus blir hemmet, kan metabolitter bli akkumulert i høyere grad, noe som fører til større overestimering. I slike tilfeller bør man vurdere å bruke en spesifikk analyse (f.eks. kromatografim metode).**
- Forstyrrende heterofile antistoffer forekommer med lav hyppighet i populasjonen. Disse antistoffene kan føre til feilaktige resultater (inkludert feilaktig lave resultater forårsaket av agglutinasjon av mikropartikkelreagensen).
- Testfunn skal alltid evalueres sammen med pasientens sykehistorie, kliniske undersøkelser og andre funn. Ytterligere tester for å bekrefte resultater skal utføres når resultater ikke stemmer overens med kliniske bevis.

- Se i pakningsvedlegget for PROGRAF når det gjelder virkninger av samtidig administrering av legemidler og legemidler som kan øke eller redusere takrolimuskonsentrasjoner.<sup>14</sup>

## FORVENTEDE VERDIER

Det optimale terapeutiske området for takrolimus i fullblod er ikke blitt fastslått med denne analysen. De terapeutiske områdene for takrolimus kan variere avhengig av kliniske faktorer og av metodene som brukes.

På grunn av variasjonen i pasientenes kliniske tilstand bør klinikere etablere et ønsket terapeutisk behandlingsområde basert på egen erfaring og de kliniske kravene hos hver pasient. Endringer i behandlingsregime skal ikke baseres utelukkende på takrolimusverdier. Forskjeller i følsomhet overfor immunsuppressive og nefrotoksiske virkninger av takrolimus, samtidig administrering av andre immunsuppressive midler, typen transplantat, tid etter transplantering og flere andre faktorer bidrar til ulike krav til optimale blodnivåer av takrolimus.

Optimale områder kan variere avhengig av testen som blir brukt, og bør derfor etableres for hver kommersiell test. Verdier som er innhentet med ulike analysemetoder, kan ikke brukes om hverandre på grunn av ulikheter i metoder og kryssreaktivitet, og korreksjonsfaktorer skal heller ikke benyttes. Konsekvent bruk av én analysetype for den enkelte pasient anbefales.

## SPESIFIKKE YTELSESEGNSKAPER

Representative ytelsesresultater som er innhentet på et kommersielt tilgjengelig automatisert analyseapparat for klinisk kjemi som benytter turbidimetriske kvantitative analyse, er vist nedenfor. Hvis ikke annet er angitt, ble alle analyser utført i samsvar med analyseprosedyren som er oppgitt her ved bruk av et Beckman AU680-analyseapparat. Resultater som innhentes i de enkelte laboratorier, kan avvike fra disse dataene. Du kan få ytterligere spesifikke ytelsesdata for analyseapparatet ved å se i den spesifikke applikasjonsprotokollen for analyseapparatet eller ved å kontakte teknisk støtte hos Thermo Fisher Scientific for assistanse.

### Rapporterbart område

Det rapporterbare området for QMS Tacrolimus Immunoassay er 1 ng/ml (minste rapporterbare verdi basert på analysefølsomhet) til 30 ng/ml takrolimus.

### Analysefølsomhet (kvantiteringsgrense – LOQ)

Analysefølsomheten representerer laveste takrolimuskonsentrasjon som kan måles med en presisjon på 20 % CV mellom analyser. Studien ble utført med fullblodprøver som var tilsatt takrolimus i området 0,5 til 5,0 ng/ml for én måling per kjøring, to ganger per dag i 30 dager med totalt 60 datapunkter. Ved øvre konfidensgrense på 95 % ble LoQ beregnet til 0,9 ng/ml, og dette underbygger en nedre analysegrense på 1,0 ng/ml. Den observerte prosentandelen gjenvinning ved 0,9 ng/ml er 102,0 %.

### Fortynningslinearitet

Det ble utført en linearitetsstudie ved å fortynde en takrolimusprøve med høy konsentrasjon med QMS Tacrolimus Calibrator A til konsentrasjoner som var jevnt fordelt over analyseområdet. Prosentverdien for gjenvinning ble deretter beregnet ved å dividere den målte takrolimuskonsentrasjonen med den forventede konsentrasjonen. De forventede konsentrasjonene ble bestemt ved å bruke den høyeste testede konsentrasjonen multiplisert med en fortynningsfaktor.

% av høy prøve	Forventet konsentrasjon (ng/ml)	Målt konsentrasjon (ng/ml)	Gjenvinning (%)
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	Ikke relevant

Forventet konsentrasjon = % av høy prøve x høy målt konsentrasjon

Gjenvinning (%) = (målt konsentrasjon/forventet konsentrasjon) x 100

## Gjenvinning

Negative fullblodprøver ble tilsatt kjente mengder takrolimus ved konsentrasjoner over analyseområdet. Takrolimuskonsentrasjoner av disse prøvene ble verifisert med en LC-MS/MS og testet med QMS Tacrolimus Immunoassay. Resultatene er vist nedenfor.

Prøve-ID	n	Forventet konsentrasjon (ng/ml)	Målt konsentrasjon (ng/ml)	Gjenvinning (%)
Prøve 1	21	2,7	2,7	101,8
Prøve 2	21	9,8	10,8	109,4
Prøve 3	21	18,0	17,7	98,2
Prøve 4	21	19,8	21,3	107,5
Prøve 5	21	27,0	27,1	100,4

Gjenvinning (%) = (målt konsentrasjon/forventet konsentrasjon) x 100

## Presisjon

Presisjon ble evaluert ved bruk av fullblod; poolede pasientprøver og prøver med tilsetning. Studien ble utført som beskrevet i CLSI-protokoll EP5-A2.<sup>15</sup> Hver prøve ble analysert med duplikat per kjøring, to ganger per dag i 20 dager. Middelerverdi samt SD og %CV innenfor kjøring og totalt for kjøring ble beregnet. Representative resultater er vist nedenfor.

Prøver	n	Middelerverdi (ng/ml)	Innenfor kjøring		Totalt kjøring	
			SD	%CV	SD	%CV
Tilsatt prøve A	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Tilsatt prøve B	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Tilsatt prøve C	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Pasientprøve A	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Pasientprøve B	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Pasientprøve C	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

## Metodesammenligning

Korrelasjonsstudier ble utført for å sammenligne QMS Tacrolimus Immunoassay med to LC-MS/MS-metoder (System 1 og System 2) samt Abbott ARCHITECT® Tacrolimus Assay. I studiene ble det benyttet EDTA-prøver av humant fullblod innhentet fra pasienter med nyre-, lever- og hjertetransplantasjon som tok takrolimus. Alle testede prøver var bunnivåprøver, i hovedsak fra voksne pasienter, og prøvene var generelt tatt > 9 måneder etter transplantasjonen. De testede pasientene var under legemiddelregimer med takrolimus enten alene eller administrert sammen med andre immunsuppressive legemidler, hovedsakelig mykofenolatmofetil (MMF), mykofenolsyre (MPA) eller kortikosteroider. Resultater av Deming-regresjonsanalyse<sup>16</sup> mellom de ulike metodene er vist i tabellen nedenfor.

Komparativ metode	n	Helning (95 % CI)*	Skjæring (95 % CI)	Korrelasjonskoeffisient (R)
LC-MS/MS System 1	383	1,111 (1,084 til 1,137)	0,53 (0,31 til 0,76)	0,972
LC-MS/MS System 2	232	1,130 (1,092 til 1,167)	0,71 (0,42 til 1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT Tacrolimus Assay	208	1,126 (1,071 til 1,181)	-0,03 (-0,63 til 0,56)	0,937

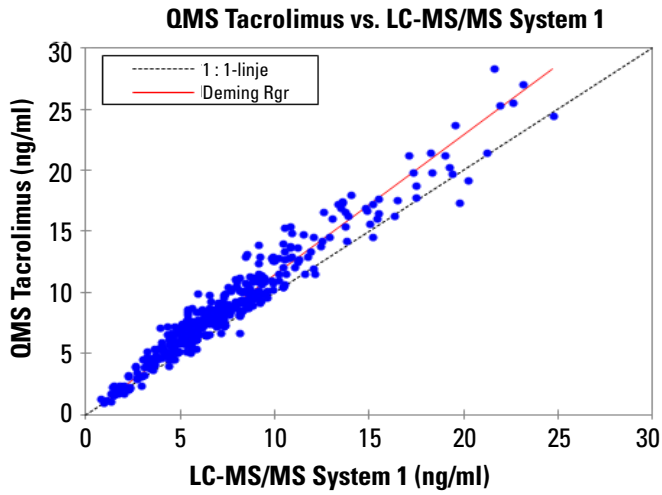
\*Konfidensintervall (CI)

QMS Tacrolimus-prøveområde: 1,0 til 30,8 ng/ml

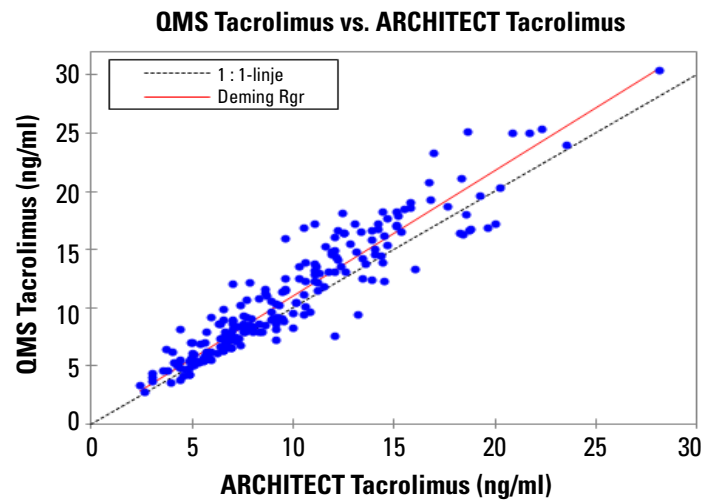
LC-MS/MS-prøveområde: 0,8 til 29,5 ng/ml

ARCHITECT Tacrolimus-prøveområde: 2,4 til 28,1 ng/ml

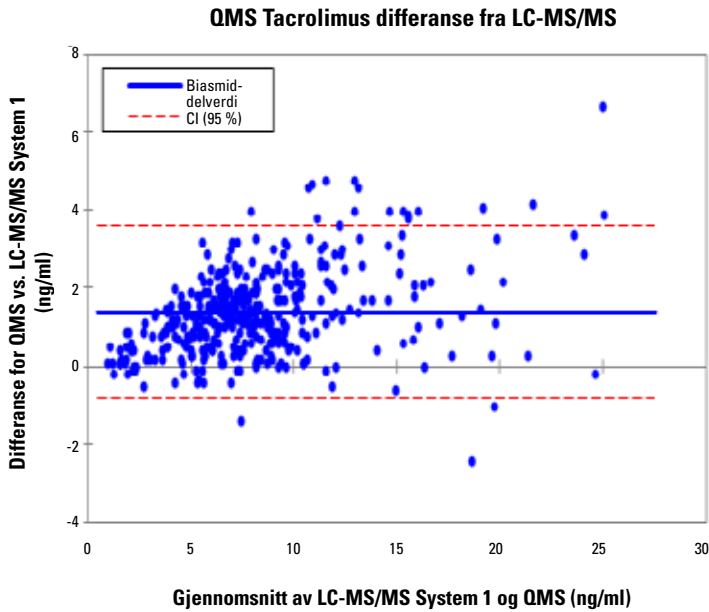
Spredningsplott for resultater fra QMS Tacrolimus vs. LC-MS/MS System 1 for kombinerte nyre-, lever- og hjertetransplantasjonsprøver.



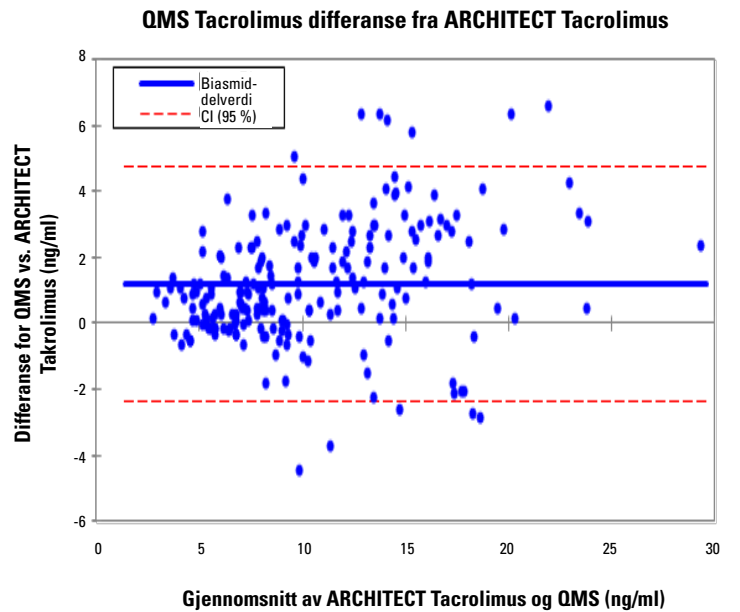
Spredningsplott for resultater fra QMS Tacrolimus vs. Abbott ARCHITECT Tacrolimus for kombinerte nyre- og levertransplantasjonsprøver.



Bland og Altman-biasplott<sup>17</sup> for resultater fra QMS Tacrolimus vs. LC-MS/MS System 1 for kombinerte nyre-, lever- og hjertetransplantasjonsprøver. Biasmiddelverdi beregnes som gjennomsnittlig differanse mellom resultater fra QMS Tacrolimus Immunoassay og LC-MS/MS System 1.



Bland og Altman-biasplott<sup>17</sup> for resultater fra QMS Tacrolimus vs. Abbott ARCHITECT Tacrolimus-analyse for kombinerte nyre- og levertransplantasjonsprøver. Biasmiddelverdi beregnes som gjennomsnittlig differanse mellom resultater fra QMS Tacrolimus Immunoassay og ARCHITECT



## Spesifisitet

Spesifisitetsstudier ble utført ved bruk av CLSI-protokoll EP7-A2 som retningslinje.<sup>18</sup> Kryssreaktivitet ble testet for de tilgjengelige hovedmetabolittene av takrolimus. Andre legemidler som rutinemessig administreres sammen med takrolimus, ble testet for å fastslå om disse forbindelsene påvirker kvantiteringen av takrolimus ved bruk av QMS Tacrolimus Immunoassay.

Kryssreaktiviteten av metabolittene ble beregnet med formelen:

$$\text{Kryssreaktivitet (\%)} = \frac{\text{målt konsentrasjon} - \text{forventet konsentrasjon}}{\text{Kryssreaktantkonsentrasjon}} \times 100$$

## Kryssreaktivitet med takrolimusmetabolitter

Kryssreaktiviteten til QMS Tacrolimus Immunoassay med hovedmetabolitter av takrolimus er vist i tabellen nedenfor. Forbindelsene som ble testet, ble tilsatt i prøver av humant fullblod som inneholdt to konsentrasjoner av takrolimuslegemiddel, og som ble testet med tre like tester. Prosent kryssreaktivitet ble beregnet.

Takrolimus-metabolitter	Metabolittkonsentrasjon (ng/ml)	Forventet konsentrasjon (ng/ml)	Målt konsentrasjon (ng/ml)	Gjenvinning (%)	Kryssreaktivitet (%)
M-I (13-O-demetyl)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-demetyl)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-demetyl)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-hydroksy)	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-didemetyl)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-didemetyl) + M-VI (13,31-O-didemetyl)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Gjenvinning (%) = (målt konsentrasjon / forventet konsentrasjon) x 100

Den observerte kryssreaktiviteten av takrolimusmetabolitt M-IV var  $\leq 174,8$  %. Takrolimusmetabolitt M-V og M-VIII er ikke blitt evaluert for å fastslå mulig kryssreaktivitet.

Takrolimuspasientprøver inneholder lave konsentrasjoner av takrolimusmetabolitter sammenlignet med det opprinnelige legemiddelet med ca. 6 % av M-I, 15 % av M-II, 6 % av M-III og nesten uregistrerbare mengder av M-IV.<sup>9,12,19</sup>

## Interfererende stoffer

Det ble utført interferensstudier med CLSI-protokollen EP7-A2 som rettledning.<sup>18</sup> QMS Tacrolimus Immunoassay ble testet med legemidler som blir administrert samtidig med takrolimus, og vanlige legemidler, for å se om det er muligheter for interferens. Forbindelsene som ble testet, ble tilsatt i prøver av humant fullblod som inneholdt ca. 5 og 12 ng/ml av takrolimuslegemiddel, og ble testet med QMS Tacrolimus Immunoassay. Gjenvinning av takrolimuskonsentrasjoner med feil større enn 10 % ble vurdert som interferens med analysen. Forbindelsene som ble testet ved oppgitte konsentrasjoner, viser ingen interferens med analysen. Gjennomsnittlig prosent gjenvinning av takrolimus varierte fra 91 % til 109 %.

Forbindelse	Konsentrasjon (ng/ml)	Forbindelse	Konsentrasjon (ng/ml)
Acetaminofen	200 000	Kanamycin B-sulfat	100 000
Acycloguanisin/ acyclovir	1 000 000	Ketoconazol	100 000
Allopurinol	50 000	Labetalol	17 100
Amikacinsulfat	150 000	Lidokain	100 000
Amfotericin B	100 000	Litium	35 000
Ampicillin	100 000	Lovastatin	20 000
Apresolin/hydralazin	100 000	Metylprednisolon	100 000
Atenolol	40 000	Metoclopramid	100 000
Azatioprin	100 000	Minoxidil	60 000
Azitromycin	5 000	Morfinsulfat	100 000
Bromocriptin/2-bromo- $\alpha$ -ergokryptin	8 000	Mykofenolsyre	100 000
Carbamazepin	120 000	N-acetylprokainamid	120 000

Tabell forts.

Forbindelse	Konsentrasjon (ng/ml)	Forbindelse	Konsentrasjon (ng/ml)
Cefazolin	150 000	Nadolol	1 200
Ceftriaxon	500 000	Naproxen	100 000
Kefalosporin C	100 000	Nikardipin	500
Klorpromazin	50 000	Nikotin	20 000
Kloramfenikol	250 000	Nifedipin	100 000
Klorodiazepoksid	20 000	Penicillin G	100 000
Klorokin	1 500	Pentobarbital	100 000
Cimetidin	100 000	Fenobarbital	150 000
Ciprofloksacin	7 400	Fenytoin	100 000
Clarithromycin	5 000	Prazosin	100 000
Clonidin	100	Prednisolon	100 000
Kolkisin	90	Prednison	100 000
Kortison	1 200	Primidon	100 000
Cyklosporin/ cyklosporin A	10 000	Probucol	600 000
Diazepam	20 000	Prokainamid	100 000
Digitoksin	100 000	Propoksifen	4 000
Digoksin	10 000	Propranolol	40 000
Diltiazem	60 000	Kinidin	100 000
Disopyramid	100 000	Ranitidin	200 000
Erytromycin	200 000	Rifampin/rifampicin	100 000
Etosuksimid	300 000	Salisylsyre	500 000
Everolimus	100	Sirolimus (rapamycin)	300
Famotidin	10 000	Spektinomycin	100 000
Flukonasol	100 000	Streptomycin	100 000
Flucytosin/ 5-fluorocytosin	40 000	Sulfametoksasol	150 000
Furosemid	100 000	Teofyllin	250 000
Ganciclovir	1 000 000	Tiklopidin	150 000
Gemfibrozil	100 000	Tobramycin	100 000
Gentamicin	120 000	Triamteren	100 000
Hydroklorotiazid	40 000	Trimetoprim	40 000
Hydrokortisol	100 000	Valproinsyre	500 000
Ibuprofen	400 000	Vankomycin	100 000
Itrakonazol	100 000	Verapamil	100 000
Kanamycin A-sulfat	100 000		

De følgende potensielt interfererende endogene stoffene viste når de ble testet med QMS Tacrolimus Immunoassay ved de indikerte konsentrasjonene, 92 % til 108 % gjenvinning.

Potensielt interfererende stoff	Konsentrasjon
Albumin	12 g/dl
Bilirubin	60 mg/dl
Kolesterol	500 mg/dl
Kreatinin	5 mg/dl
Triglycerid	1 500 mg/dl
Urinsyre	20 mg/dl
IgG-gammaglobulin	12 g/dl
Revmatoidfaktor	500 IE/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hematokrit	12 % – 64 %

\*HAMA = humane antimusantistoffer

## BIBLIOGRAFI

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® [pakningsvedlegg]. 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.

## Ordliste:

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



**Produsent:**  
Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA  
Gratisnummer i USA: 800-626-0690



**Godkjent representant i EU:**  
B-R-A-H-M-S GmbH  
Neuendorfstrasse 25  
16761 Hennigsdorf, Germany

## Kundeservice

Gratisnummer i USA: 1-800-232-3342  
Andre land: Kontakt den lokale representanten for Microgenics

Bio-Rad Lyphocheck® er et registrert varemerke som tilhører Bio-Rad®.  
MORE Diagnostics Controls tilhører MORE Diagnostics, Inc.  
ARCHITECT er et registrert varemerke som tilhører Abbott Laboratories®.  
Alle andre varemerker tilhører Thermo Fisher Scientific Inc. og deres datterselskaper.  
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Med enerrett.



Oppdateringer knyttet til pakningsvedlegg finner du på:  
[www.thermofisher.com/diagnostics](http://www.thermofisher.com/diagnostics)

10015557-12-NO  
2021 01

**thermo**  
scientific