

Rx Only

REF 10015556

Только для использования в диагностике *in vitro*

Перед использованием тест-системы Quantitative Microsphere System (QMS) необходимо внимательно прочитать данный вкладыш в ее упаковке. Необходимо соответствующим образом следовать указаниям, изложенным в листовке-вкладыше. В случае допущения каких-либо отклонений от указаний, изложенных в данной листовке-вкладыше, достоверность результатов анализа не может быть гарантирована.

НАЗНАЧЕНИЕ

Тест QMS Tacrolimus Reagent Kit предназначен для количественного определения такролимуса в цельной крови человека на автоматических клинических химических анализаторах. Полученные результаты используются как вспомогательное средство при ведении пациентов после трансплантации почек, печени или сердца, получающих лечение такролимусом. Это изделие для диагностики *in vitro* предназначено для использования только в клинической лаборатории.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ ТЕСТА

Такролимус (FK506, PROGRAF[®]) является антибиотиком-макролидом грибковой природы, *Streptomyces tsukubaensis*, с мощным иммуносупрессивным действием, назначаемым пациентам с трансплантатами почек и печени¹. Такролимус является ингибитором кальциневрина (природной фосфатазы, стимулирующей пролиферацию T-клеток)²⁻⁴. Такролимус связывается внутри клетки с веществами семейства связывающих белков под названием FKBP (FK506-связывающие белки) с образованием пентамерного комплекса, включающего такролимус, FKBP, кальциневрины A и B, а также кальмодулин²⁻⁵. В результате образования пентамера происходит ингибирование фосфатазной активности кальциневрина, необходимой для активации транскрипционных факторов и транспорта в ядро клетки. Таким образом, ухудшается экспрессия генов T-лимфоцитов, особенно для цитокинов, таких как ИЛ-2, в результате проявляется иммуносупрессивное действие на организм пациента²⁻⁵.

Распределение такролимуса между цельной кровью и плазмой зависит от нескольких факторов, таких как гематокрит, концентрация препарата и концентрация плазматических белков. Отношение его концентрации в цельной крови к концентрации в плазме в среднем составило 35 (при диапазоне от 12 до 67)⁶⁻⁷. Такролимус интенсивно метаболизируется системой цитохрома P-450, в основном — CYP3A⁸⁻¹¹. Препарат превращается как минимум в 8 метаболитов (M-I – M-VIII) посредством деметилирования и гидроксирования¹². Расчетный период полувыведения такролимуса *in-vivo* в среднем составляет 48 часов⁸⁻¹¹. Имеются также публикации о широкой вариабельности концентраций такролимуса в цельной крови, как у одного и того же пациента, так и при сравнении этого показателя у разных пациентов¹³. Рекомендуется тщательно и часто контролировать концентрацию такролимуса¹⁴.

ПРИНЦИПЫ МЕТОДИКИ

Тест QMS Tacrolimus Reagent Kit — это гомогенный турбидиметрический иммуноанализ с латексным усилением. Анализ основан на конкуренции между лекарственным препаратом в образце и лекарственным препаратом, нанесенным на микрочастицы, за участки связывания реагента антител к такролимусу. Реагент микрочастиц, покрытых такролимусом, быстро агглютинируется в присутствии реагента антител к такролимусу и в отсутствие каких-либо конкурирующих лекарственных препаратов в образце. Скорость изменения поглощения измеряется фотометрически при 700 нм. При добавлении образца, содержащего такролимус, реакция агглютинации частично ингибируется с замедлением скорости изменения оптической плотности. Можно построить классическую кривую ингибирования агглютинации в зависимости от концентрации с максимальной скоростью агглютинации при минимальной концентрации такролимуса и минимальной скоростью агглютинации при максимальной концентрации такролимуса.

РЕАГЕНТЫ

Набор реагентов

QMS Tacrolimus Reagent Kit, **REF** 10015556, поставляется в виде жидкого готового к применению трехкомпонентного набора, который содержит:

REAGENT 1 1 x 18 мл

REAGENT 2 1 x 12 мл

EXT Реагент для экстракции Extraction Reagent 1 x 50 мл (требуется рабочий раствор, см. раздел 2 «Приготовление экстрагирующего раствора»)

Реакционные ингредиенты

INGRED	Концентрация	ингредиента
REAGENT 1	Моноклональные антитела к такролимусу (кроличьи)	< 1,0 %
	Азид натрия	0,09 %
REAGENT 2	Покрытые такролимусом микрочастицы	< 0,3 %
	Азид натрия	0,09 %
EXT	Азид натрия	0,09 %

ОБРАЩЕНИЕ С РЕАГЕНТАМИ И ИХ ХРАНЕНИЕ

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2**, а также **EXT** (реагент для экстракции Extraction Reagent) готовы к использованию.
- Перед использованием несколько раз переверните, избегая образования пузырьков.
- Удалите воздушные пузырьки при их наличии в картридже с реагентами. Либо выдержите реагент при надлежащей температуре хранения для рассеивания пузырьков воздуха. Во избежание уменьшения объема не используйте для удаления пузырьков пипетку для переноса материала.
- Когда либо **REAGENT 1**, либо **REAGENT 2** картридж опустеет, замените оба картриджа и проверьте калибровку как минимум с одним контрольным образцом каждого уровня в соответствии с установленными требованиями контроля качества в вашей лаборатории. Если результаты контроля выходят за рамки диапазона приемлемых значений, может потребоваться повторная калибровка.
- Сведения, специфичные для системы, см. в таблице параметров аналитической системы для конкретного анализатора.
- В случае случайного пролива очистите и утилизируйте материал в соответствии с СОП вашей лаборатории, местными и государственными постановлениями.
- В случае обнаружения повреждения упаковки по прибытии свяжитесь со своим представителем службы технической поддержки (см. обратную сторону данного листа-вкладыша).



ОСТОРОЖНО! Пузырьки в реагенте могут помешать правильному определению уровня реагента в картридже и повлечь недостаточную аспирацию реагента, что может повлиять на результаты. Нескрывавшиеся реагенты стабильны до истечения срока годности при хранении при температуре 2–8 °C.

Не замораживайте реагенты и не подвергайте их воздействию температур выше 32 °C.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для использования в диагностике *In Vitro*. При обращении со всеми лабораторными реагентами соблюдайте обычные меры предосторожности.
- Не смешивайте материалы из наборов с разными номерами лотов.
- Не используйте наборы реагентов с истекшим сроком годности.

ОПАСНОСТЬ: Реагенты 1 и 2 теста QMS Tacrolimus Reagent Kit содержат ≤3,0 % альбумина человеческой сыворотки (АЧС) и ≤1,0 % специфических антител (кролика) к препарату. Реагент QMS Tacrolimus Extraction содержит ≤9,0 % сульфата цинка (ZnSO4).

H317 - Может вызывать аллергическую кожную реакцию.

H334 - В случае вдыхания может вызывать симптомы аллергии/астмы или затруднять дыхание.

H318 - Вызывает серьезные повреждения глаз.

H411 - Токсично для водных организмов, имеет долгосрочные последствия.

Избегайте вдыхания капель или испарений. Ношение загрязненной рабочей одежды за пределами рабочего места не разрешается. Следует надевать защитные перчатки и средства защиты глаз и лица. В случае недостаточной вентиляции следует надевать средства защиты органов дыхания. В случае попадания на кожу: смойте большим количеством мыла и воды. В СЛУЧАЕ ВДЫХАНИЯ: если дыхание затруднено, вынесите пострадавшего на свежий воздух и оставьте в положении, удобном для дыхания. В случае раздражения кожи или сыпи: обратитесь за медицинской помощью. В случае респираторных симптомов: позвоните в ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР или вызовите врача. Загрязненную одежду необходимо стирать перед повторным использованием. Выбрасывайте содержимое и контейнеры в пунктах утилизации в соответствии с местными/национальными/международными нормативными предписаниями.

Не допускайте утечки в окружающую среду. Следует надевать защитные перчатки и средства защиты глаз и лица. ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА в течение нескольких минут тщательно промойте водой. При наличии контактных линз снимите их (если это легко сделать) и продолжайте промывать глаза. Незамедлительно позвоните в токсикологический центр или вызовите врача. Ликвидируйте разлив. Выбрасывайте содержимое и контейнеры в пунктах утилизации в соответствии с местными/национальными/международными нормативными предписаниями.



ОСТОРОЖНО! Материалы человеческого происхождения проанализированы на наличие ВИЧ 1 и 2, а также вирусов гепатитов В и С рекомендованным FDA методом с отрицательными результатами. Однако так как ни один аналитический метод не позволяет полностью исключить потенциальный риск инфицирования, обращаться с материалом следует с такой же осторожностью, как с образцом от пациента. В случае воздействия необходимо следовать указаниям уполномоченных органов здравоохранения.

Реагенты, используемые в компонентах данной аналитической системы, содержат ≤0,09 % азида натрия. Избегайте контакта с кожей и слизистыми оболочками. Дополнительные меры предосторожности, инструкции по обработке и действиям при случайном контакте см. в сертификате безопасности.

ОТБОР И ОБРАБОТКА ОБРАЗЦОВ

- Могут использоваться только образцы цельной крови, отобранные в пробирки с ЭДТА. Для всех пробирок для забора образцов следуйте инструкции производителя по обработке. Для сохранения пригодности образцов следует соблюдать осторожность с момента их отбора до проведения анализа. Образцы должны быть промаркированы с указанием как времени забора крови, так и времени последнего введения лекарственного препарата.
- Образцы следует закрыть и проанализировать не позднее 7 дней (если они хранятся при температуре 2–8 °C) или 6 месяцев (если они хранятся при температуре ≤ -20 °C)¹⁰⁻¹¹. Избегайте повторного замораживания и оттаивания. Не допускайте вспенивания образцов.

МЕТОДИКА

Поставляемые материалы

- Набор реагентов QMS Tacrolimus Reagent Kit, [REF] 10015556

Необходимые, но не предоставляемые материалы

- Набор калибраторов QMS Tacrolimus Calibrator Set, [REF] 10015573, калибратор CAL A: 1 x 4 мл, калибраторы CAL B-F: 1 x 2 мл каждый
- Продукты для контроля качества
 - Рекомендуемые материалы:
 - Контроли MORE Diagnostics Rap/Tac/CsA Controls, НИЗКИЙ, 280-Q: 4 x 4 мл каждый
 - СРЕДНИЙ, 280-1: 4 x 4 мл каждый
 - ВЫСОКИЙ, 280-2: 4 x 4 мл каждый
 - По поводу других коммерчески доступных продуктов для контроля качества звоните в службу технической поддержки Thermo Fisher Scientific Technical Support
- Метанол (ВЭЖХ качества) (степень чистоты $\geq 99,8\%$)
- Пробирки с круглым дном для микроцентрифуги
- Автоматический химический анализатор для клинической лаборатории

Подготовка образца

Примечание. Следуйте инструкциям и рекомендациям по обращению с контролями, приведенным в листах-вкладышах, если они прилагаются к данной поставке.

Перед проведением экстракции выдержите калибраторы и образцы от пациентов до достижения ими комнатной температуры. Перед использованием калибраторы следует перемешивать в течение как минимум 15–20 минут, а образцы от пациентов следует тщательно перемешать при комнатной температуре. Перемешайте калибраторы и образцы от пациентов, осторожно переворачивая пробирки (предпочтительно использовать встряхиватель-качалку). Избегайте образования пузырьков воздуха.

Приготовление экстрагирующего раствора

1. Внесите точно измеренные 10 мл доведенного до комнатной температуры реагента для экстракции Extraction Reagent в чистый, сухой воздухонепроницаемый флакон.
2. Добавьте точно измеренные 40 мл метанола качества ВЭЖХ (степень чистоты $\geq 99,8\%$) во флакон и осторожно перемешайте. Промаркируйте его как «Рабочий раствор для экстракции такролимуса». Зафиксируйте текущую дату и дату истечения срока годности (2 недели от даты приготовления) на этикетке. Храните при комнатной температуре.

Методика экстракции для образцов, калибраторов и контролей

ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ОПТИМАЛЬНЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ ТОЧНО СЛЕДУЙТЕ ПЕРЕЧИСЛЕННЫМ НИЖЕ ЭТАПАМ. ЭКСТРАКТЫ ДОЛЖНЫ АНАЛИЗИРОВАТЬСЯ НЕМЕДЛЕННО ПОСЛЕ ЭКСТРАКЦИИ.

1. Приготовьте и промаркируйте микроцентрифужные пробирки с круглым дном для экстракции образцов, калибраторов и контролей. Приготовьте по одной микроцентрифужной пробирке для каждого образца.
2. С помощью дозатора точно отмерьте и перенесите 200 мкл образца, калибратора или контрольных материалов в промаркированную микроцентрифужную пробирку. Наберите образец в дозатор, осторожно прикоснитесь наконечником дозатора к краю флакона с образцом для удаления избытка образца, затем распределите образец по внутренней стенке микроцентрифужной пробирки.
Примечание. Убедитесь, что в наконечнике дозатора отсутствуют пузырьки воздуха. Воздух в наконечнике является потенциальной причиной неточности.
3. Точно отмерьте дозатором 200 мкл экстрагирующего раствора и внесите в микроцентрифужную пробирку. При подготовке нескольких образцов для аспирации и распределения экстрагирующего раствора рекомендуется использовать дозатор-репитер. Перед распределением экстрагирующего раствора удалите любые пузырьки воздуха из наконечника дозатора.
4. Закройте пробирку для микроцентрифуги колпачком и незамедлительно проведите ее встряхивание при максимальной скорости в течение 15–30 секунд. Проверьте каждую пробирку на однородность смеси. При обнаружении несмешавшегося образца бережно взболтайте пробирку, чтобы сдвинуть несмешавшуюся часть с места, и повторите встряхивание.
5. Выдержите смесь в пробирке для микроцентрифуги при комнатной температуре в течение 5–7 минут для оседания смеси.
6. Поместите микроцентрифужную пробирку в центрифугу и центрифугируйте в течение 5 минут при скорости вращения, соответствующей 15 000–16 000 xg.
7. Слейте надосадочную жидкость в чашку для образца (избегайте образования пузырьков воздуха) и незамедлительно проведите анализ для минимизации испарения образца. Не постукивайте по чашке для стекания последней капли способом, который может взмутить осадок.
8. Утилизируйте экстракты после анализа. Для повторного тестирования нужны свежие экстракты.

Примечание. Вы можете получить дополнительные наконечники и рекомендации относительно этапов экстракции образца для теста QMS Tacrolimus Reagent Kit в службе технической поддержки Thermo Fisher Scientific Technical Support.

Методика проведения анализа

Подробное описание порядка проведения и калибровки анализа приведено в руководстве по проведению конкретных операций на приборе.

Методика разбавления образца

Используйте калибратор QMS Tacrolimus CAL A (0,0 нг/мл) для разведения вручную образцов, выходящих за пределы линейности анализа.

Протокол разведения вручную

Разведение вручную допустимо для образцов от пациентов, в которых зарегистрирована концентрация такролимуса выше 30 нг/мл, путем разведения образца калибратором QMS Tacrolimus CAL A (0,0 нг/мл) в отношении 1:1 перед его экстракцией. Разбавление должно быть проведено таким образом, чтобы значение результата теста с разбавлением было выше чувствительности анализа, составляющей 1 нг/мл. Отмеченную концентрацию необходимо умножить на коэффициент ручного разбавления, чтобы получить итоговую концентрацию образца.

Конечная концентрация образца = Зарегистрированная концентрация x Фактор разведения вручную

Фактор разведения вручную = (Объем образца + Объем калибратора CAL A) ÷ Объем образца

КАЛИБРОВКА

Тест QMS Tacrolimus Reagent Kit необходимо калибровать с использованием полной калибровочной (6-точечной) методики. При проведении полной калибровки используйте калибраторы QMS Tacrolimus Calibrator Set A, B, C, D, E и F. Только набор калибраторов QMS Tacrolimus Calibrator Set следует использовать с тестом QMS Tacrolimus Reagent Kit. Точные результаты количественного определения такролимуса невозможно получить без использования набора калибраторов QMS Tacrolimus Calibrator Set, [REF] 10015573, при калибровке теста QMS Tacrolimus Reagent Kit.

Калибровка необходима для каждого нового номера лота. Проверьте калибровочную кривую минимум с одним контрольным образцом каждого уровня согласно утвержденным требованиям контроля качества вашей лаборатории. Если результаты контроля выходят за рамки диапазона приемлемых значений, необходимо выполнить корректирующее действие.

Периодичность калибровки

Рекомендуется повторная калибровка

- После смены партии реагента (набора)
- После проведения ежемесячного технического обслуживания прибора
- В соответствии с требованиями следующих процедур контроля качества

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Все требования по управлению качеством должны быть выполнены в соответствии с местными, региональными и федеральными нормативами или аккредитационными требованиями.

Для получения дополнительной информации о требованиях по контролю качества и возможным корректирующим действиям ознакомьтесь, если применимо, со Стандартными операционными процедурами вашей лаборатории и/или Планом обеспечения качества.

Рекомендованные контрольные требования для теста QMS Tacrolimus Reagent Kit

- Следует анализировать как минимум один контрольный образец каждого уровня при каждом проведении экстракции и анализа образцов от пациентов.
- Если требуется более частое контрольное наблюдение, следуйте утвержденным процедурам контроля качества для вашей лаборатории.
- Все требования по контролю качества должны соблюдаться в соответствии с местными, региональными и федеральными нормативами.
- Если результаты контроля качества не укладываются в допустимый диапазон, заданный вашей лабораторией, результаты пациента могут быть сомнительными и не подлежат регистрации. Следует предпринять корректирующее действие.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты теста QMS Tacrolimus Reagent Kit приводятся в отчете выраженными в нг/мл.

Отчет о результатах: лаборатории должны указывать в своих отчетах, что результаты получены с помощью теста QMS Tacrolimus Reagent Kit.

Коды ошибок результатов:

Некоторые результаты могут содержать коды ошибок результатов. Описание кодов ошибок см. в руководстве по эксплуатации конкретного прибора.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

- Концентрации такролимуса в данном образце, определенные с помощью анализов от разных производителей, могут различаться в связи с различиями в аналитических методах и специфичности реагентов. Рекомендуется осуществлять последовательный мониторинг с помощью одного анализа.
- **иммунологические методы являются неспецифичными и перекрестно реагируют с метаболитами. В связи с этим иммунологические методы могут выдавать завышенные концентрации такролимуса (см. раздел «Сравнение методов»). При ухудшении выведения такролимуса метаболиты могут накапливаться в большом количестве, что приводит к завышенным результатам анализа. В этих случаях следует предусмотреть использование специфичного метода (например, хроматографического).**
- В популяции с низкой частотой встречается интерферирующие гетерофильные антитела. Эти антитела могут быть причиной ошибок: например, в результате агглютинации реагента микрочастицы показатели могут быть ошибочно занижены.

- Результаты теста обязательно следует оценивать в сочетании с историей болезни пациента, данными клинических обследований и другими данными. Если результаты не согласуются с клиническими проявлениями, необходимо провести дополнительное тестирование для подтверждения результатов.
- См. листок-вкладыш к препарату PROGRAF, в котором содержатся сведения о влиянии сочетанного применения препаратов и о препаратах, назначение которых может привести к повышению или понижению концентраций такролимуса¹⁴.

ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Для данного анализа не установлен оптимальный терапевтический диапазон концентрации такролимуса в цельной крови. Терапевтические диапазоны для такролимуса могут варьироваться в зависимости от клинических факторов и от используемой методологии.

Учитывая гетерогенность клинического состояния пациента, клиницистам следует установить надлежащий терапевтический диапазон и поддерживать его, исходя из их собственного опыта, а также в соответствии с клиническими потребностями каждого пациента. Изменения в режим лечения следует вносить, основываясь не только на значениях концентрации такролимуса. Индивидуальные различия в чувствительности к иммуносупрессивному и нефротоксическому действию такролимуса, сочетанный прием других иммуносупрессантов, тип трансплантата, время, прошедшее после трансплантации, и ряд других факторов вносят вклад в различные требования к оптимальным уровням такролимуса в крови.

Оптимальные диапазоны могут варьироваться в зависимости от используемого метода и потому должны быть установлены для каждого коммерчески доступного теста. Значения, полученные различными аналитическими методами, не могут использоваться попеременно в связи с различиями в методологии и перекрестной реактивностью; также не могут применяться поправочные коэффициенты. Рекомендуется постоянное использование одного анализа для каждого конкретного пациента.

ОТДЕЛЬНЫЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Репрезентативные результаты эффективности, полученные на имеющемся в продаже автоматическом клиническом химическом анализаторе, применяющем турбидиметрический количественный анализ, приведены ниже. Если не указано иное, все анализы были проведены в соответствии с представленной в данном документе аналитической методикой с использованием анализатора Beckman AU680. Результаты, полученные в отдельных лабораториях, могут отличаться от этих данных. Для ознакомления с дополнительной информацией относительно рабочих характеристик анализатора см. протокол использования конкретного анализатора или обратитесь за помощью по телефону службы технической поддержки Thermo Fisher Scientific Technical Support.

Подлежащий регистрации диапазон

Подлежащим регистрации диапазоном для теста QMS Tacrolimus Reagent Kit является от 1 нг/мл (минимальное подлежащее регистрации значение, обоснованное функциональной чувствительностью) до 30 нг/мл такролимуса.

Функциональная чувствительность (предел количественного определения)

Функциональная чувствительность представляет собой наименьшую концентрацию такролимуса, поддающуюся измерению при внутренней точности анализа с CV 20 %. Было проведено исследование с использованием образцов цельной крови, обогащенных такролимусом в диапазоне от 0,5 до 5,0 нг/мл, при одном измерении за анализ, дважды в день в течение 30 дней, с получением в общей сложности 60 точек данных. На верхней границе 95% доверительного интервала расчетное значение ПКО составило 0,9 нг/мл, что подтверждает нижнюю границу анализа 1,0 нг/мл. Степень извлечения при 0,9 нг/мл составила 102,0%.

Линейность при разведении

Исследование по оценке линейности было проведено путем разведения образца с высокой концентрацией такролимуса калибратором QMS Tacrolimus Calibrator A до концентраций, равномерно распределенных по всему диапазону анализа. Процент обнаружения определяли делением измеренной концентрации такролимуса на ожидаемую концентрацию. Ожидаемые концентрации определяли, умножая измеренную высокую концентрацию на коэффициент разведения.

% от образца с высокой концентрацией	Прогнозируемая концентрация (нг/мл)	Измеренная концентрация (нг/мл)	Обнаружение (%)
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 %

Продолжение таблицы

% от образца с высокой концентрацией	Прогнозируемая концентрация (нг/мл)	Измеренная концентрация (нг/мл)	Обнаружение (%)
2,8 %	0,8	0,8	99,6 %
0,0 %	0,0	0,0	н/а

Прогнозируемая концентрация = % От образца с высокой концентрацией x Высокая измеренная концентрация
Обнаружение (%) = (Измеренная концентрация ÷ Прогнозируемая концентрация) x 100

Обнаружение

Отрицательные образцы цельной крови обогащали известными количествами такролимуса до концентраций, распределенных по всему диапазону анализа. Концентрации такролимуса в этих образцах проверяли с помощью ЖХ-МС/МС и определяли в тесте QMS Tacrolimus Reagent Kit. Результаты приведены ниже.

Идентификационный номер образца	n	Прогнозируемая концентрация (нг/мл)	Измеренная концентрация (нг/мл)	Обнаружение (%)
Образец 1	21	2,7	2,7	101,8
Образец 2	21	9,8	10,8	109,4
Образец 3	21	18,0	17,7	98,2
Образец 4	21	19,8	21,3	107,5
Образец 5	21	27,0	27,1	100,4

Обнаружение (%) = (Измеренная концентрация ÷ Прогнозируемая концентрация) x 100

Точность исследования

Точность оценивали с использованием объединенных образцов цельной крови (от пациентов и обогащенных). Исследование проводили как описано в протоколе CLSI EP5-A2¹⁵. Каждый образец исследовали в двойной повторности на анализ, дважды в день в течение 20 дней. Были подсчитаны средняя, а также CO и CV (%) внутри анализа и общие. Репрезентативные результаты приведены ниже.

Образцы	n	Средняя (нг/мл)	Внутри анализа		Общие	
			CO	CV (%)	CO	CV (%)
Обогащенный образец А	80	3,0	0,2	4,9 %	0,2	7,1 %
Обогащенный образец В	80	10,0	0,2	1,9 %	0,4	3,6 %
Обогащенный образец С	80	20,9	0,4	1,9 %	1,1	5,0 %
Образец от пациента А	80	3,2	0,1	4,1 %	0,2	6,2 %
Образец от пациента В	80	10,4	0,2	2,2 %	0,4	3,6 %
Образец от пациента С	80	24,2	0,5	2,1 %	1,1	4,6 %

Сравнение методов

Были проведены исследования по оценке корреляции при сравнении теста QMS Tacrolimus Reagent Kit с двумя методами ЖХ-МС/МС (Система 1 и Система 2), а также с анализом Abbott ARCHITECT[®] Tacrolimus Assay. В исследованиях использовали образцы цельной крови с ЭДТА, полученные от пациентов с трансплантатами почек, печени и сердца, принимающих такролимус. Исследовались образцы с минимальной концентрацией препарата, взятые преимущественно у взрослых пациентов через 9 месяцев после трансплантации или позже. Режимы лечения такролимусом обследуемых пациентов состояли либо в получении одного препарата, либо в сочетании с каким-либо другим иммунодепрессантом, преимущественно микофенолата мофетилом (МФМ), микофеноловой кислотой (МФК) или кортикостероидами. Результаты анализа регрессии Деминга¹⁶ между различными методами показаны в таблице ниже.

Сравнительный метод	n	Наклон (95 % ДИ*)	Пересечение (95 % ДИ)	Коэффициент корреляции (R)
ЖХ-МС/МС Система 1	383	1,111 (от 1,084 до 1,137)	0,53 (от 0,31 до 0,76)	0,972
ЖХ-МС/МС Система 2	232	1,130 (от 1,092 до 1,167)	0,71 (от 0,42 до 1,01)	0,967
Анализ Abbott ARCHITECT Tacrolimus Assay	208	1,126 (от 1,071 до 1,181)	-0,03 (от -0,63 до 0,56)	0,937

*Доверительный интервал (ДИ)

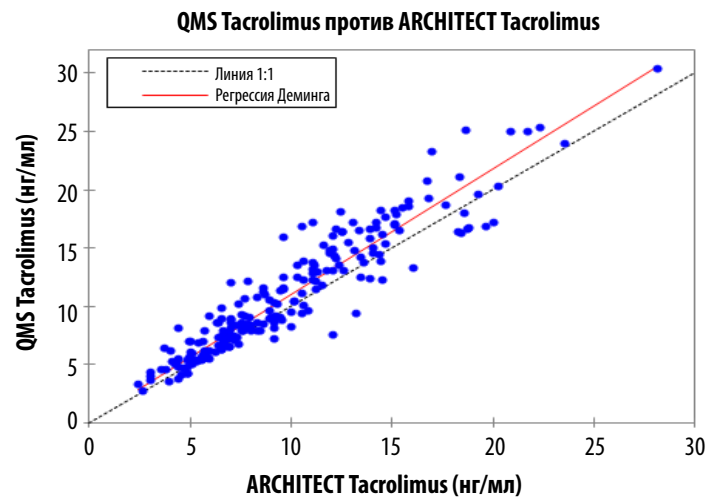
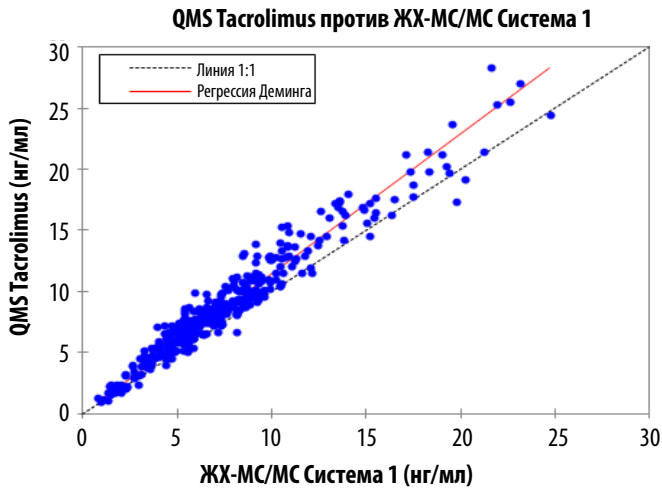
Диапазон образцов QMS Tacrolimus: от 1,0 до 30,8 нг/мл

Диапазон образцов ЖХ-МС/МС: от 0,8 до 29,5 нг/мл

Диапазон образцов ARCHITECT Tacrolimus: от 2,4 до 28,1 нг/мл

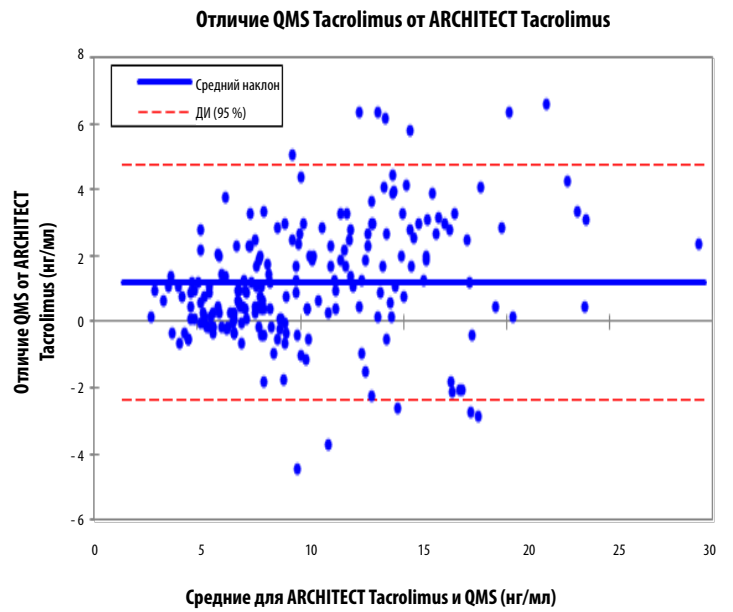
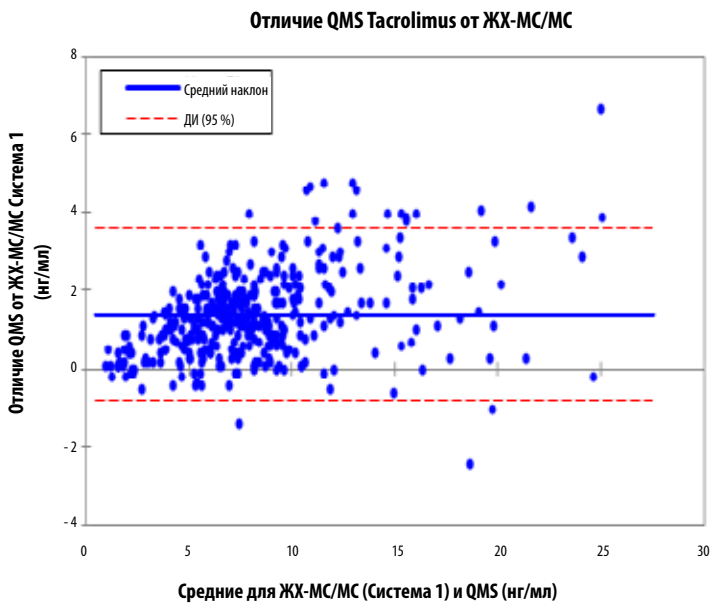
Диаграмма разброса результатов, полученных с помощью QMS Tacrolimus, против ЖХ-МС/МС Система 1, для комбинированных образцов от пациентов с трансплантатами почек, печени и сердца.

Диаграмма разброса результатов, полученных с помощью QMS Tacrolimus, против Abbott ARCHITECT Tacrolimus, для комбинированных образцов от пациентов с трансплантатами почек и печени.



Наклонный график Бланда-Альмана¹⁷ результатов, полученных с помощью QMS Tacrolimus, против ЖХ-МС/МС Система 1, для комбинированных образцов от пациентов с трансплантатами почек, печени и сердца. Средний наклон рассчитывается как усредненная разница между результатами теста QMS Tacrolimus Reagent Kit и результатами ЖХ-МС/МС Система 1.

Наклонный график Бланда-Альмана¹⁷ результатов, полученных с помощью QMS Tacrolimus, против анализа Abbott ARCHITECT Tacrolimus, для комбинированных образцов от пациентов с трансплантатами почек и печени. Средний наклон рассчитывается как усредненная разница между результатами теста QMS Tacrolimus Reagent Kit и результатами анализа ARCHITECT Tacrolimus.



Специфичность

Исследования по оценке специфичности были проведены с использованием протокола CLSI EP7-A2 в качестве руководства¹⁸. Перекрестная реактивность оценивалась для основных доступных метаболитов такролимуса. Также были проверены другие лекарства, обычно назначаемые совместно с такролимусом, для выяснения, влияют ли данные вещества на количественное определение концентраций такролимуса с помощью теста QMS Tacrolimus Reagent Kit.

Перекрестную реактивность метаболитов рассчитывали по формуле:

$$\text{Перекрестная реактивность (\%)} = \frac{\text{Измеренная концентрация} - \text{прогнозируемая концентрация}}{\text{Концентрация перекрестно реагирующего вещества}} \times 100$$

Перекрестная реактивность с метаболитами такролимуса

Перекрестная реактивность теста QMS Tacrolimus Reagent Kit с основными метаболитами такролимуса представлена в следующей таблице. Тестируемые вещества добавлялись к образцам цельной крови, содержащим две концентрации такролимуса, и анализировались в трех повторностях. Рассчитывали процент перекрестной реактивности.

Метаболиты такролимуса	Концентрация метаболита (нг/мл)	Прогнозируемая концентрация (нг/мл)	Измеренная концентрация (нг/мл)	Степень извлечения (%)	Перекрестная реактивность (%)
M-I (13-0-деметил)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-0-деметил)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	- 0,5
M-III (15-0-деметил)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-гидроксид)	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 (13,15-0-дидеметил)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-0-дидеметил) + M-VI (13,31-0-дидеметил)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Степень извлечения (%) = (Измеренная концентрация ÷ Ожидаемая концентрация) x 100

Наблюдавшаяся перекрестная реактивность с метаболитом такролимуса M-IV составила ≤ 174,8 %. Метаболиты такролимуса M-V и M-VIII не оценивались на потенциальную перекрестную реактивность.

Образцы от пациентов содержат метаболиты такролимуса в низких концентрациях по сравнению с исходным препаратом (около 6 % M-I, 15 % M-II, 6 % M-III и почти неопределяемый M-IV).^{9,12,19}

Интерферирующие вещества

Исследования интерференции проводились с использованием протокола CLSI EP7-A2 в качестве руководства¹⁸. Тест QMS Tacrolimus Reagent Kit оценивали с препаратами, обычно назначаемыми совместно с такролимусом, и с наиболее распространенными препаратами для определения любых возможных взаимодействий. Исследуемые вещества добавляли в образцы человеческой цельной крови, содержавшие приблизительно 5 и 12 нг/мл такролимуса, и анализировали с помощью теста QMS Tacrolimus Reagent Kit. Обнаружение концентрации такролимуса с более чем 10 % погрешностью было принято за критерий наличия взаимодействия вещества с анализом. Вещества, исследованные в концентрациях, представленных в таблице ниже, не вступали во взаимодействие с анализом. Средний процент обнаружения такролимуса составлял от 91 % до 109 %.

Вещество	концентрация (нг/мл)	Вещество	концентрация (нг/мл)
Ацетаминофен	200 000	Канамицина дисульфат	100 000
Ациклогванзин / ацикловир	1 000 000	Кетоконазол	100 000
Аллопуринол	50 000	Лабеталол	17 100
Амикацина сульфат	150 000	Лидокаин	100 000
Амфотерицин В	100 000	Литий	35 000
Ампициллин	100 000	Ловастатин	20 000
Апрезолин / гидралазин	100 000	Метилпреднизолон	100 000
Атенолол	40 000	Метоклопрамид	100 000
Азатиоприн	100 000	Миноксидил	60 000
Азитромицин	5 000	Морфина сульфат	100 000
Бромкриптин / 2-Бром-α-эргокриптин	8 000	Микофеноловая кислота	100 000
Карбамазепин	120 000	N-ацетилпрокаинамид	120 000

Продолжение таблицы

Вещество	концентрация (нг/мл)	Вещество	концентрация (нг/мл)
Цефазолин	150 000	Надолол	1 200
Цефтриаксон	500 000	Напроксен	100 000
Цефалоспорины С	100 000	Никардипин	500
Хлорпромазин	50 000	Никотин	20 000
Хлорамфеникол	250 000	Нифедипин	100 000
Хлордиазепоксид	20 000	Пенициллин G	100 000
Хлорохин	1 500	Пентобарбитал	100 000
Циметидин	100 000	Фенобарбитал	150 000
Ципрофлоксацин	7 400	Фенитоин	100 000
Кларитромицин	5 000	Празозин	100 000
Клонидин	100	Преднизолон	100 000
Колхицин	90	Преднизон	100 000
Кортизон	1 200	Примидон	100 000
Циклоспорин / циклоспорин А	10 000	Пробукол	600 000
Диазепам	20 000	Прокаинамид	100 000
Дигитоксин	100 000	Пропоксибен	4000
Дигоксин	10 000	Пропранолол	40 000
Дилтиазем	60 000	Хинидин	100 000
Дизопирамид	100 000	Ранитидин	200 000
Эритромицин	200 000	Рифампин / рифампицин	100 000
Этосуксимид	300 000	Салициловая кислота	500 000
Эверолимус	100	Сиролимус (рапамидин)	300
Фамотидин	10 000	Спектиномицин	100 000
Флуконазол	100 000	Стрептомицин	100 000
Флуцитозин / 5-Флуороцитозин	40 000	Сульфаметоксазол	150 000
Фуросемид	100 000	Теофиллин	250 000
Ганцикловир	1 000 000	Тиклопидин	150 000
Гемфиброзил	100 000	Тобрамицин	100 000
Гентамицин	120 000	Триамтерен	100 000
Гидрохлортиазид	40 000	Триметоприм	40 000
Гидрокортизон	100 000	Вальпроевая кислота	500 000
Ибупрофен	400 000	Ванкомицин	100 000
Итраконазол	100 000	Верапамил	100 000
Канамицина моносульфат	100 000		

При анализе следующих потенциально взаимодействующих эндогенных веществ с помощью теста QMS Tacrolimus Reagent Kit в указанных концентрациях показатель обнаружения составил от 92 % до 108 %.

Потенциально взаимодействующее вещество	Концентрация
Альбумин	12 г/дл
Билирубин	60 мг/дл
Холестерин	500 мг/дл
Креатинин	5 мг/дл
Триглицерид	1 500 мг/дл
Мочевая кислота	20 мг/дл
Гамма-глобулин IgG	12 г/дл
Ревматоидный фактор	500 МЕ/мл
НАМА*	400 нг/мл
Гематокрит	12 % - 64 %

*НАМА = человеческие антимышечные антитела

БИБЛИОГРАФИЯ

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.

Словарь:

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



Производитель:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Бесплатный из США: 800-626-0690



Авторизованный представитель в ЕС:
B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Клиентская служба

Бесплатный из США: 1-800-232-3342
В других странах: Обратитесь к региональному представителю Microgenics.

Bio-Rad Lyphochek® является зарегистрированной торговой маркой компании Bio-Rad®.
MORE Diagnostics Controls является собственностью MORE Diagnostics, Inc.
ARCHITECT является зарегистрированной торговой маркой Abbott Laboratories®.
Все остальные торговые марки принадлежат компании Thermo Fisher Scientific Inc. и ее дочерним компаниям.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Все права сохраняются.



Обновления вкладыша — см.
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-12-RU
2021 01

thermo
scientific