QMS® Tacrolimus Immunoassay

thermo scientific

Rx Only

REF 10015556

Yalnızca *İn Vitro Diyagnostik* Kullanım İçin

Bu Quantitative Microsphere System (QMS) prospektüsü kullanım öncesinde dikkatle okunmalıdır. Prospektüste verilen talimatlar uygulanmalıdır. Bu prospektüste verilen talimatların dışına çıkılması durumunda test kiti ile elde edilen sonuçların güvenilirliği garanti edilemez.

KULLANIM AMACI

QMS Takrolimus İmmün Testi, otomatik klinik kimya analizörlerinde insan tam kanındaki takrolimus niceliksel belirlemesi için tasarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, takrolimus tedavisi gören hastalardaki böbrek, karaciğer ve kalp transplant yönetiminde bir yardımcı olarak kullanılır. Bu *in vitro* diyagnostik cihaz, yalnızca klinik laboratuvar kullanımı için tasarlanmıştır.

TEST ÖZETİ VE AÇIKLAMASI

Takrolimus (FK506, PROGRAF®) makrolid antibiyotik mantar (*Streptomyces tsukubaensis*) kökenlidir, böbrek veya karaciğer nakli geçirmiş hastalarda reçete edilmiş olarak, potent bağışıklık baskılayıcı işleve sahiptir.[1] Takrolimus, kalsinörin inhibitörüdür, doğası itibariyle fosfattır ve T hücre proliferasyonunu aktive eder.[2-4] Selüler olaylarda, takrolimus FKBP'lar (FK506 bağlama proteinleri) adı verilen bağlama proteinleri ailesi bağlar ve ardından takrolimus, FKBP, kalsinörin A ve B ve kalmodulin içeren pentametrik bir kompleks meydana getirir.[2-5] Pentamer formasyonu salsinörindeki fosfat etkinliğinin inhibisyonuna neden olur, bu hücre çekirdeğine aktarım için transkripsiyonel faktörleri etkinleştirmek için gereklidir. Bu nedenle, T-limfosit gen ekspresyonu özellikle de IL-2 gibi sitokinler için bozulmuştur ve hastalarda bağışıklık baskılayıcı etkiye neden olur.[2-5]

Tam kan ve plazma arasındaki takrolimus dağılımı hematokrit, ilaç konsantrasyonu ve plazma protein konsantrasyonu gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Tam kanın plazma konsantrasyonuna oranı ortalama 35'tir (12 ila 67 aralığında).[6-7] Takrolimus esas olarak CYP3A olmak üzere sitokrom P-450 sistemi tarafından yaygın olarak metabolize edilir.[8-11] İlaç demetilasyon ve hidroksilasyon ile 8 metabolite (M-I – M-VIII) metabolize edilir.[12] Takrolimusun in vivo ortalama yarı ömrünün 48 saat olduğu hesaplanmıştır.[8-11] Tam kandaki Takrolimus konsantrasyonlarında büyük bir hasta içi değişkenlik ve ayrıca hastalar arası değişkenlik olduğu bildirilmiştir.[13] Takrolimusun dikkatli ve sık biçimde gözlenmesi tavsiye edilir.[14]

PROSEDÜR İLKELERİ

QMS Takrolimus İmmün Testi, homojen partikül ile geliştirilmiş türbidimetrik bir immün testidir. Test kiti, numunedeki ilaç ile takrolimus antikor reaktifinin antikor bağlama bölgeleri için mikropartikül üzerine kaplanmış ilaç arasındaki rekabeti temel alır. Anti takrolimus antikor reaktifin varlığında ve numunede herhangi bir rakip ilacın yokluğunda, takrolimus kaplı mikropartikül reaktif hızla aglütine olur. Absorbans değişim hızı 700 nm'de fotometrik olarak ölçülür. Takrolimus içeren bir numune eklendiğinde, aglütinasyon reaksiyonu kısmen inhibe olarak absorbans değişim hızını yavaşlatır. Konsantrasyona bağlı klasik aglütinasyon inhibisyon eğrisi, en düşük takrolimus konsantrasyonunda maksimum aglütinasyon oranıyla ve en yüksek takrolimus konsantrasyonunda en düşük aglütinasyon oranıyla elde edilebilir.

REAKTİFLER

Reaktif Kiti

QMS Takrolimus, **REF** 10015556, sıvı, kullanıma hazır, üç reaktif kiti olarak sunulur ve şunları içerir:

REAGENT 1 1 x 18 ml

REAGENT 2 1 x 12 ml

EXT Ekstraksiyon Reaktifi 1 x 50 ml (gerekli çalışma çözümü, bkz. s. 2 Ekstraksiyon Solüsyonu Hazırlama)

Reaktif Maddeler

INGRED	Madde	Konsantrasyon
REAGENT 1	Anti Takrolimus Monoklonal Antikor (Tavşan)	<%1,0
	Sodyum Azit	%0,09
REAGENT 2	Takrolimus Kaplı Mikropartiküller	<%0,3
	Sodyum Azit	%0,09
EXT	Sodyum Azit	%0,09

REAKTİFLE ÇALIŞMA VE SAKLAMA

- **REAGENT 1**, **REAGENT 2** ve **EXT** (Ekstraksiyon Reaktifi) Kullanıma Hazırdır.
- Kullanım öncesinde kabarcık oluşumuna fırsat vermeden birkaç kez ters çevirin.
- Eğer varsa reaktif kartuşundan hava kabarcıklarını çıkartın. Alternatif olarak, reaktifi uygun saklama ısısında bekletin ve kabarcıkların dağılmasını sağlayın. Hacim kaybını minimuma indirmek için, kabarcıkları çıkartmak üzere aktarma pipeti kullanmayın.
- **REAGENT 1** veya **REAGENT 2** kartuş boşaldığında her iki kartuşu da değiştirin ve laboratuvarınız için belirlenen Kalite Kontrol gerekliliklerine uygun her seviyeden en az bir örnek kontrol kullanarak kalibrasyonun uygunluğunu doğrulayın. Kontrol sonuçları kabul edilebilir aralıkların dışındaysa tekrar kalibrasyon gerekebilir.
- Sisteme özel bilgiler için analizöre özel Test Kiti Sistem Parametresi Sayfası'na bakın.
- Kazara dökülmesi halinde, laboratuvarın SOP'sine, yerel, eyalet ve ülke düzenlemelerine uygun temizleyin ve atın.
- Teslimat sırasında paketin hasar görmesi halinde, teknik destek temsilciniz ile iletişim kurun (bu prospektüsün arka sayfasına bakın).

⚠ **DİKKAT:** Reaktif kabarcıkları kartuştaki reaktif seviyesinin doğru tespitini önleyebilir ve bu da sonuçları etkileyecek kadar yetersiz reaktif aspirasyonuna neden olabilir.

2°C–8°C Açılmamış reaktifler 2 ila 8 °C'de saklandığında son kullanma tarihine kadar stabildir.

Reaktifleri dondurmayın veya 32 °C üzerinde ısıya maruz bırakmayın.

⚠ UYARILAR VE ÖNLEMLER

- Yalnızca *İn Vitro* Diyagnostik Kullanım İçin. Tüm laboratuvar reaktifleri ile çalışırken alınması gereken normal önlemleri alın.
- Farklı lot numaralarına sahip kitlerdeki malzemeleri karıştırmayın.
- Son kullanma tarihlerinden sonra reaktif kitlerini kullanmayın.

TEHLİKE: QMS Takrolimus İmmün Testi, ≤%3,0 insan serumu albümini (HSA) ve ≤%1,0 ilaca özgü antikor içerir.
QMS Takrolimus Ekstraksiyonu reaktifi, ≤%9,0 çinko sülfat (ZnSO4) içerir.
H317 - Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir.
H334 - Solunması durumunda alerji veya astım semptomlarına veya nefes alma güçlüğüne neden olabilir.
H318 - Gözde ciddi hasara neden olur.
H411 - Su yaşamı için uzun süreli toksik etkiler.

Buğu veya buhar solumaktan kaçının. Kontamine olan çalışma giysisi işyerinin dışına çıkmamalıdır. Koruyucu eldivenler/koruyucu gözlük/yüz koruyucu takın. Yetersiz havalandırma olması durumunda solunum koruması takın. Cilde temas etmesi halinde: Bol sabun ve suyla yıkayın. SOLUNMUŞSA: Maruz kalan nefes almada zorluk çekiyorsa temiz havaya çıkarın ve nefes alması için rahat bir konumda tutun. Ciltte tahriş veya döküntü oluşursa: Tıbbi yardım/destek alın. Solunum semptomları yaşanıyorsa: ZEHİR MERKEZİNİ veya doktoru/hekimi arayın. Yeniden kullanmadan önce kontamine olan giysileri yıkayın. İçindekileri/kabı, yerel/bölgesel/ulusal/uluslararası düzenlemelere uygun bir yere atın.

Çevreye yayılmamasını sağlayın. Koruyucu eldivenler/koruyucu gözlük/yüz koruyucu takın. GÖZLERE TEMAS ETMESİ HALİNDE: Su ile birkaç dakika boyunca dikkatlice yıkayın. Kontakt lens varsa ve çıkarması kolaysa çıkartın. Durulamaya devam edin. Derhal bir Zehir Merkezini veya doktoru/hekimi arayın. Döküleni toplayın. İçindekileri/kabı, yerel/bölgesel/ulusal/uluslararası düzenlemelere uygun bir yere atın.

⚠ **DİKKAT:** İnsan kaynaklı malzemeler HIV1 ve 2, Hepatit B ve Hepatit C için FDA onaylı yöntem ile test edilmiştir ve bulgular negatiftir. Ancak, hiçbir test yöntemi potansiyel enfeksiyon riskini mutlak kesinlikte tespit edemeyeceğinden, bu malzemelerle hastadan alınan numunelerde olduğu gibi dikkatle çalışılmalıdır. Maruz kalınması durumunda yetkili sağlık kurumlarının direktiflerine uyulmalıdır.

Test kiti bileşenlerinde kullanılan reaktifler ≤%0,09 sodyum azit içerir. Deri ve mukoza tabakasıyla temasından kaçının. Ek önlemler, çalışma talimatları ve kazara maruz kalma tedavisi için SDS'ye bakın.

ÖRNEK TOPLAMA VE ÇALIŞMA

- Sadece EDTA (etilendiamintetraasetik asit) tüplerinde toplanan kan örnekleri kullanılabilir. Her türlü serum veya plazma toplama tüpü için üreticinin işleme talimatlarına uyun. Toplandığı zamandan test kitinin performansına kadar örneğin bütünlüğünü korumak için özen gösterilmelidir. Numuneler kan alma saati ve son ilaç uygulaması ile etiketlenmelidir.
- Örnekler kapatılmalı ve 2-8 °C'de saklandığında 7 gün içinde veya ≤ -20 °C'de saklandığında 6 ay içinde test edilmelidir.[6,10-11] Tekrar eden dondurma ve eritmeden kaçının. Numunelerin köpürmesini engelleyin.

PROSEDÜR

Sağlanan Malzemeler:

• QMS Takrolimus Reaktif Kiti, REF 10015556

Gereken ancak Sağlanmayan Malzemeler

• QMS Takrolimus Kalibratörleri, REF 10015573, CAL A: 1 x 4 ml, CAL B-F: her biri 1 x 2 ml
• Kalite Kontrol Ürünleri
  Tavsiye Edilen Malzemeler
  • MORE Diyagnostik Rap/Tac/CsA Kontrolleri,
    DÜŞÜK, 280-Q: her biri 4 x 4 ml
    ORTA, 280-1: her biri 4 x 4 ml
    YÜKSEK, 280-2: her biri 4 x 4 ml
  • Uygun kalite kontrol ürünlerine dair öneriler için Thermo Fisher Scientific Teknik Desteği ile iletişim kurun
• Metanol, HPLC (yüksek performanslı likit kromatografi) derecesi (≥ %99,8 saflık)
• Yuvarlak alt Mikrosantrifüj tüpleri
• Otomatik klinik kimya analizörü

Numune Hazırlama

Not: Sağlanmışsa, kontroller için tedarikçiye özel prospektüsleri ve kullanma önerilerini takip edin.

Kalibratörlerin ve hastadan alınan örneklerin ekstraksiyon öncesi oda sıcaklığına gelmesini sağlayın. Kullanım öncesi kalibratörler minimum 15-20 dakika karıştırmalıdır ve hastadan alınan örnekler oda sıcaklığında iyice karıştırılmalıdır. Kalibratörleri ve hastadan alınan örnekleri dikkatle ters çevirerek karıştırın (salıncak kullanımı tercih edilir). Kabarcık oluşumundan kaçının.

Ekstraksiyon Solüsyonu Hazırlama

1. Oda sıcaklığında 10 ml Ekstraksiyon Reaktifini temiz, kuru ve hava geçirmez bir şişeye aktarın.
2. Tam olarak 40 ml HPLC (yüksek performanslı likit kromatografi) Derecesinde Metanolü (≥ %99,8 saflık) şişeye aktarın ve yavaşça karıştırın. Bunu "Takrolimus Çalışma Ekstraksiyonu Solüsyonu" olarak etiketleyin. Geçerli tarihi, son kullanma tarihini (hazırlama tarihinden itibaren 2 hafta) etiket üzerine kaydedin. Oda sıcaklığında saklayın.

Numuneler, Kalibratörler ve Kontroller için Ekstraksiyon Prosedürü

OPTİMUM SONUÇLAR İÇİN AŞAĞIDAKİ ADIMLARI TAM OLARAK TAKİP EDİN. EKSTRAKTLAR EKSTRAKSİYONDAN HEMEN SONRA ÇALIŞTIRILMALIDIR.

1. Numunelerin, kalibratörlerin ve kontrollerin ekstraksiyonu için yuvarlak mikrosantrifüj tüplerini hazırlayın ve etiketleyin. Her örnek için bir mikrosantrifüj tüpü hazırlayın.
2. Etiketli mikrosantrifüj tüpüne tam 200 µL örnek, kalibratör veya kontrol malzemelerini ölçmek için pipet kullanın. Örneği pipetle aspire edin, pipet ucunu örnek flakonunun kenarına hafifçe silerek varsa kalan örneği temizleyin, ardından örneği mikrosantrifüj tüpünün iç duvarına dağıtın. **Not:** Uçta hava kabarcığı kalmadığından emin olmak için pipet ucunu kontrol edin. Uçta hava kalması, hatalı ölçümün olası kaynağıdır.
3. Tam olarak 200 µl ekstraksiyon solüsyonunu mikrosantrifüj tüpüne ölçmek için pipet kullanın. Birden fazla örnek hazırlarken, ekstraksiyon solüsyonunu aspire etmek ve dağıtmak için tekrarlayıcı pipet önerilir. Ekstraksiyon solüsyonunu dağıtmadan önce pipetteki hava kabarcıklarını çıkartın.
4. Kapağını kapatın ve mikrosantrifüj tüpünü 15-30 saniye boyunca derhal maksimum hızla girdap oluşturacak şekilde karıştırın. Her tüpteki karışımın homojen olup olmadığını inceleyin. Karıştırılmamış örnek saptanırsa, karıştırılmamış kısmı çıkartın ve yeniden vorteksleyin.
5. 5-7 dakika boyunca mikrosantrifüj tüpündeki karışımın oda sıcaklığında durmasını sağlayın.
6. Mikrosantrifüj tüpünü bir santrifüje yerleştirin ve 5 dakika 15.000 - 16.000 xg'ye eşdeğer dev./dk'da santrifüje tabi tutun.
7. Süzüntüyü bir numune kabına aktarın (kabarcık oluşumundan kaçının) ve örneğin buharlaşmasını minimuma indirmek için ölçümü derhal yürütün. Son damlayı boşaltmak için pellete zarar verebilecek biçimde kabı vurmayın.
8. Analizden sonra ekstraktları atın. Numunelerin yeniden test edilmesi taze ekstraksiyon gerektirir.

Not: QMS Takrolimus İmmün Testi için örnek ekstraksiyon adımlarına ilişkin ek ipuçları ve öneriler Thermo Fisher Scientific Teknik Desteğinde mevcuttur.

Test Kiti Prosedürü

Bir test kitinin nasıl kalibre edileceğinin ve çalıştırılacağının detaylı açıklaması için cihaza özel kullanım kılavuzuna başvurun.

Örnek Seyreltme Prosedürü

QMS Takrolimus CAL A (0,0 ng/ml) kullanarak numuneleri test kitinin lineeritesi dışında manuel olarak seyreltin.

Manuel Seyreltme Protokolü

Takrolimus konsantrasyonları 30 ng/ml üzeri olarak rapor edilen hastadan alınan numunelerde, manuel seyreltme numune ekstrakte edilmeden önce numune QMS Takrolimus CAL A (0,0 ng/ml) ile 1:1 oranında seyreltilerek gerçekleştirilebilir. Seyreltme işlemi, seyreltilmiş test sonuçları 1 ng/ml olan test kiti hassasiyetinden daha yüksek okunacak şekilde yapılmalıdır. Nihai numune konsantrasyonunu elde etmek için raporlanan konsantrasyon manuel seyreltme faktörü ile çarpılmalıdır.

Nihai Numune Konsantrasyonu = Raporlanan Konsantrasyon x Manuel Seyreltme Faktörü

Manuel Seyreltme Faktörü = (Numune Hacmi + CAL A Hacmi) ÷ Numune Hacmi

KALİBRASYON

QMS Takrolimus İmmün test kiti tam kalibrasyon prosedürü (6 nokta) kullanılarak kalibre edilmelidir. Tam kalibrasyon yapmak için, QMS Takrolimus Kalibratörleri A, B, C, D, E, ve F'yi test edin. QMS Takrolimus İmmün Testiyle yalnızca QMS Takrolimus Kalibratörleri kullanılmalıdır. QMS Takrolimus test kitinin kalibrasyonunda, QMS Takrolimus Kalibratör seti REF 10015573 kullanılmazsa, doğru takrolimus niceliksel belirlemesi sağlanamaz.

Her yeni lot numarası kalibrasyon gerektirir. Kalibrasyon eğrisini, laboratuvarınız için belirlenen Kalite Kontrol gerekliliklerine uygun her düzeyden en az bir örnek kontrol kullanarak doğrulayın. Kontrol sonuçları kabul edilebilir aralıkların dışındaysa düzeltici eylem gerekebilir.

Kalibrasyon Frekansı

Tekrar kalibrasyon önerilir

- Kalibratör veya reaktif (kit) lotu değişikliğinden sonra
- Aylık cihaz performans bakımı gerçekleştirildikten sonra
- Aşağıdaki kalite kontrol prosedürleri gerekli kıldıkça

KALİTE KONTROL

Tüm kalite kontrol koşulları yerel, eyalet ve/veya federal yönetmeliklere ve akreditasyon koşullarına uygun olarak gerçekleştirilmelidir.

Gerekli durumlarda ilave kalite kontrol koşulları ve olası düzeltici eylemler için laboratuvarınızın Standart Çalışma Prosedürlerine ve/veya Kalite Güvencesi Planına başvurun.

QMS Takrolimus İmmün Testi için önerilen kontrol gereklilikleri:

- Hastadan alınan numunelerin her ekstraksiyonu ve testinde her düzeyden en az bir örnek çalıştırılmalıdır.
- Eğer kontrol izleme daha sık gerekiyorsa, laboratuvarınız için belirlenen Kalite Kontrol prosedürlerini uygulayın.
- Tüm kalite kontrolü koşulları yerel, eyalet ve/veya federal yönergelerine ve akreditasyon koşullarına uygun olarak gerçekleştirilmelidir.
- Eğer kalite kontrol sonuçları laboratuvarınız tarafından tanımlanmış kabul edilebilir aralık içerisinde değilse, hasta değerleri şüpheli olabilir ve rapor edilmemelidir. Düzeltici eylem gerçekleştirilmelidir.

SONUÇLAR

QMS Takrolimus İmmün Testi için sonuç birimleri ng/ml olarak rapor edilir.

Sonuçların Rapor Edilmesi: Laboratuvarlar sonuçların QMS Takrolimus yöntemiyle elde edildiğini rapor etmelidir.

Sonuç Hata Kodları:

Bazı sonuçlarda Sonuç Hata Kodları bulunabilir. Hata kodlarının açıklamaları için cihaza özel kullanım kılavuzuna başvurun.

PROSEDÜRÜN KISITLAMALARI

- Belirli bir örnekte farklı üreticilerden test kitleriyle belirlenen takrolimusun konsantrasyonları, test yöntemleri ve reaktif spesifisitesine bağlı olarak farklılık gösterebilir. Tutarlı biçimde tek bir test kitiyle izleme önerilir.
- **İmmün testleri non-spesifiktir ve metabolitlerle çapraz reaksiyon gösterir. Bu yüzden, immün testleri takrolimus konsantrasyonunu fazla tahmin edebilir (bkz. Yöntem Karşılaştırma bölümü). Takrolimus eliminasyonu zarar gördüğünde, metabolitler daha fazla birikerek daha fazla aşırı tahmine yol açarlar. Bu durumlarda, spesifik bir testin (örneğin kromatografik yöntem) kullanımı göz önünde bulundurulmalıdır.**
- Popülasyonda düşük sıklıkla heterofil antikor etkileşimi oluşabilir. Bu antikorlar hatalı sonuçlar alınmasına yol açabilir (mikropartikül reaktifin aglütinasyonundan kaynaklanan hatalı düşük sonuçlar gibi).
- Diyagnostik amaçlar için, test bulguları her zaman hastanın tıbbi geçmişi, klinik muayeneler ve diğer bulgularla birlikte değerlendirilmelidir. Sonuçlar klinik kanıtlarla tutarsız olduğunda, bu sonuçları doğrulayacak ek testler yapılmalıdır.

- Birlikte tatbik edilen ilaçların etkilerine ve takrolimus konsantrasyonlarını artırabilecek veya azaltabilecek ilaçlara ilişkin olarak PROGRAF prospektüsüne bakın.[14]

BEKLENEN DEĞERLER

Tam kandaki takrolimus için optimum terapötik aralık bu testle tam olarak belirlenmemiştir. Takrolimus için terapötik aralıklar klinik faktörlere ve kullanılan metodolojiye bağlı olarak değişebilir.

Hastaların klinik farklılıkları göz önünde bulundurulduğunda, klinisyenlerin istenen terapötik yönetim aralığını kendi deneyimlerine ve ayrıca her bir hastanın klinik gerekliliklerine dayanarak tesis etmesi gerekmektedir. Tedavi rejimine yapılan değişiklikler sadece takrolimus değerlerine dayanmamalıdır. Bağışıklık baskılayıcı ve nefrotoksik takrolimus etkilerine karşı hassasiyet bakımından kişisel farklılıklar, diğer immünosupresanlarla birlikte uygulama, transplantın türü, transplant sonrası zaman ve bir dizi diğer faktörler optimal takrolimus kan seviyeleri için farklı gerekliliklere neden olabilirler.

Optimum aralıklar kullanılan teste göre değişir ve bu nedenle her ticari test için belirlenmelidir. Farklı test yöntemleriyle elde edilen değerler metodolojideki ve çapraz reaktivite farkları nedeniyle birbiri yerine kullanılamaz ve düzeltme faktörleri uygulanamaz. Her bir hasta için aynı test kitinin sürekli olarak kullanılması önerilir.

SPESİFİK PERFORMANS ÖZELLİKLERİ

Ticari olarak edinilebilen, türbidimetrik niceliksel analiz kullanan bir otomatik klinik kimya analizörü üzerinde alınan temsilci performans sonuçları aşağıda gösterilmiştir. Aksi belirtilmediği takdirde, tüm testler Beckman AU680 analizörü kullanılarak burada sağlanan Test Kiti prosedürü uyarınca gerçekleştirilmiştir. Ayrı ayrı laboratuvarlarda elde edilen sonuçlar bu verilerden farklı olabilir. Ek analizöre özel performans verileri için, analizöre özel uygulama protokolüne veya yardım için Thermo Fisher Teknik Desteğe başvurun.

Bildirilebilir Aralık

QMS Takrolimus İmmün Testi için bildirilebilir aralık 1 ng/ml (İşlevsel Duyarlılığa göre minimum rapor edilebilir değer) ila 30 ng/ml takrolimustur.

İşlevsel Duyarlılık (Niceliklendirme Sınırı):

İşlevsel duyarlılık, %20 KV test içi kesinlikle ölçülebilen en düşük takrolimus konsantrasyonunu temsil eder. Çalışma, günde iki kez, toplam 60 veri noktasıyla 30 gün için çalıştırma başına bir ölçüm için 0,5 ila 5,0 ng/ml arasında takrolimus eklenmiş tam kan örnekleri kullanılarak yürütülmüştür. Üst %95 güven aralığında, niceliksel leştirme sınırının (LoQ) 0,9 ng/ml olduğu hesaplanmıştır; bu da 1,0 ng/mL değerindeki düşük test sınırını desteklemektedir. 0,9 ng/mL'de gözlemlenen geri kazanım yüzdesi, %102,0'dır.

Seyreltme Lineerliği

Lineerlik çalışmaları yüksek konsantrasyonlu takrolimus örneğini QMS Takrolimus Kalibratör A ile birlikte test aralığı boyunca eşit dağıtılmış konsantrasyonlara sulandırılarak yapılmıştır. Geri kazanım yüzdesi, ölçülen takrolimus konsantrasyonunun beklenen konsantrasyona bölünmesi ile belirlenmiştir. Beklenen konsantrasyonlar test edilen en yüksek konsantrasyonunu seyreltme faktörüne oranı kullanılarak belirlenmiştir.

Yüksek Numune %'si	Beklenen konsantrasyon (ng/ml)	Ölçülen Konsantrasyon (ng/ml)	Geri Kazanım (%)
%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	uygulanamaz

Beklenen Konsantrasyon = Yüksek Numune %'si x Yüksek Ölçülen Konsantrasyon
Geri Kazanım (%) = (Ölçülen Konsantrasyon ÷ Beklenen Konsantrasyon) x 100

Geri Kazanım

Negatif tam kan numunelerinde, tüm test aralığında konsantrasyonlarda bilinen miktarlarda takrolimus eklenmiştir. Bu örneklerin takrolimus konsantrasyonlar bir LC-MS/MS tarafından doğrulanmıştır ve QMS Takrolimus İmmün Testi ile test edilmiştir. Sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Numune Kimliği	n	Beklenen Konsantrasyon (ng/ml)	Ölçülen Konsantrasyon (ng/ml)	Geri Kazanım (%)
Numune 1	21	2,7	2,7	101,8
Numune 2	21	9,8	10,8	109,4
Numune 3	21	18,0	17,7	98,2
Numune 4	21	19,8	21,3	107,5
Numune 5	21	27,0	27,1	100,4

Geri Kazanım (%) = (Ölçülen Konsantrasyon ÷ Beklenen Konsantrasyon) x 100

Hassasiyet

Hassasiyet tam kan havuzu hasta ve analit eklenen numuneler kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma CLSI protokolü EP5-A2'de açıklanan biçimde yürütülmüştür.[15] Her örnek 20 gün boyunca günde iki kez çalıştırma başına çift test edilmiştir. Ortalama, çalışma içi, toplam çalıştırma SD ve KV %'si hesaplanmıştır. Temsili sonuçlar aşağıda verilmiştir.

Numuneler	n	Ortalama (ng/ml)	Çalışma İçi		Toplam Çalışma	
			SD	%KV (Katsayı Varyasyonu)	SD	%KV (Katsayı Varyasyonu)
Analit Eklenen Numune A	80	3,0	0,2	%4,9	0,2	%7,1
Analit Eklenen Numune B	80	10,0	0,2	%1,9	0,4	%3,6
Analit Eklenen Numune C	80	20,9	0,4	%1,9	1,1	%5,0
Hastadan Alınan Numune A	80	3,2	0,1	%4,1	0,2	%6,2
Hastadan Alınan Numune B	80	10,4	0,2	%2,2	0,4	%3,6
Hastadan Alınan Numune C	80	24,2	0,5	%2,1	1,1	%4,6

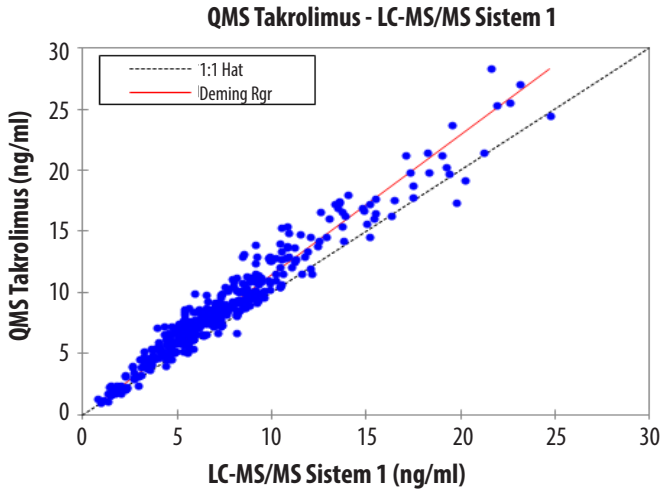
Yöntem Karşılaştırması

QMS Takrolimus İmmün Test Kitini iki LC-MS/MS yöntemiyle (Sistem 1 ve Sistem 2) ve Abbott ARCHITECT® Takrolimus İmmün Test Kitiyle karşılaştırmak için korelasyon çalışmaları yapılmıştır. Çalışmalar, takrolimus alan böbrek, karaciğer ve kalp transplantasyon hastalarından alından insan tam kan EDTA örneklerini kullanmıştır. Test edilen tüm örnekler; transplantasyondan sonra genellikle 9 aydan uzun süre geçmiş, çoğunluğu yetişkinlerden oluşan hastalardan alınan örneklerdir. Test edilen hastalar, tek başına veya ağırlıklı olarak Mikofenolat Mofetil (MMF), Mikofenolik Asit (MPA) veya Kortikosteroidler gibi diğer bağışıklık baskılayıcı ilaçlarla birlikte tatbik edilen Takrolimus ilaç rejimi almıştır. Farklı yöntemler arasındaki Deming regresyon analizi sonuçları[16] aşağıdaki tabloda gösterilmiştir.

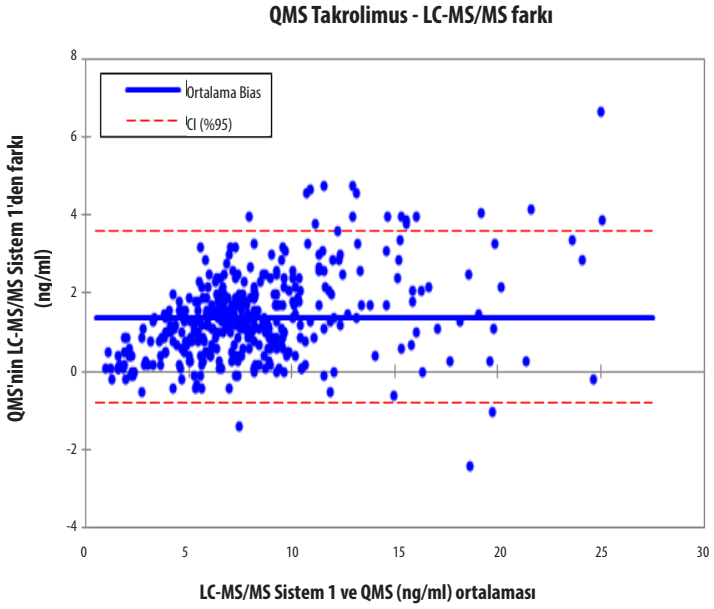
Karşılaştırmalı Yöntem	n	Eğim (%95 CI*)	Kesişim (%95 CI)	Korelasyon Katsayısı (R)
LC-MS/MS Sistem 1	383	1,111 (1,084 - 1,137)	0,53 (0,31 - 0,76)	0,972
LC-MS/MS Sistem 2	232	1,130 (1,092 - 1,167)	0,71 (0,42 - 1,01)	0,967
Abbott ARCHITECT Takrolimus Test Kiti	208	1,126 (1,071 - 1,181)	-0,03 (-0,63 - 0,56)	0,937

*Güven Aralığı (CI)
QMS Takrolimus Güven Aralığı: 1,0 ila 30,8 ng/ml
LC-MS/MS Örnek Aralığı: 0,8 ila 29,5 ng/ml
ARCHITECT Takrolimus Örnek Aralığı: 2,4 ila 28,1 ng/ml

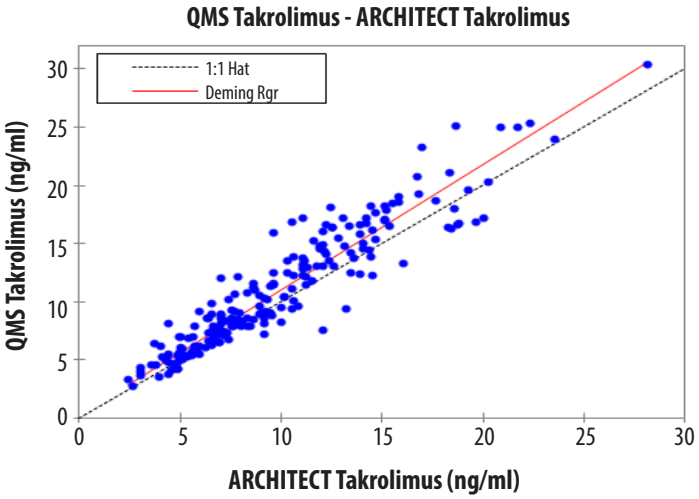
Kombine böbrek, karaciğer ve kalp transplant örnekleri için QMS Takrolimus - LC-MS/MS Sistem 1'den alınan sonuçlar için saçılma planı.



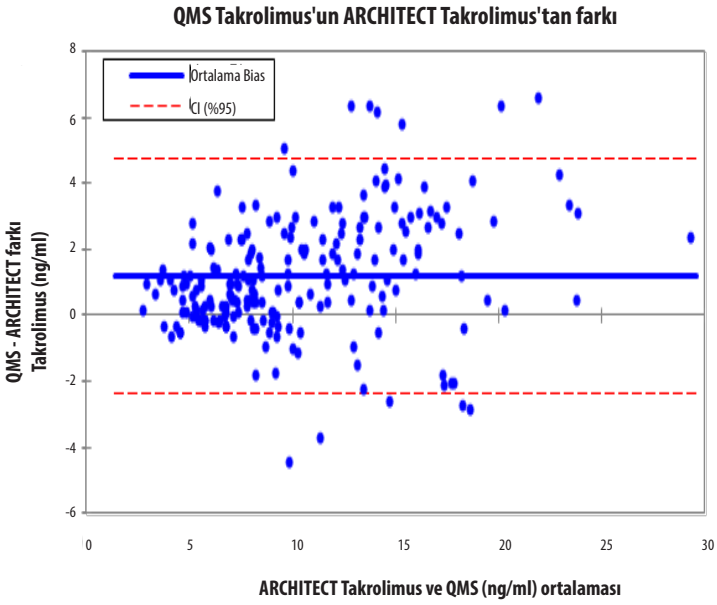
[17] Kombine böbrek, karaciğer ve kalp transplant örnekleri için QMS Takrolimus - LC-MS/MS Sistem 1'den alınan sonuçlar için Bland ve Altman bias planı. Ortalama Bias, QMS Takrolimus İmmün Testi Kiti ve LC-MS/MS Sistem 1 sonuçları arasındaki ortalama farktan hesaplanır.



Kombine böbrek ve karaciğer transplant örnekleri için QMS Takrolimus - Abbot ARCHITECT Takrolimustan alınan sonuçlar için saçılma planı.



[17] Kombine böbrek ve karaciğer transplant örnekleri için QMS Takrolimus - Abbott ARCHITECT Takrolimus test kitinden alınan sonuçlar için Bland ve Altman bias planı. Ortalama Bias, QMS Takrolimus İmmün Testi Kiti ve ARCHITECT Takrolimus sonuçları arasındaki ortalama farktan hesaplanır.



Spesifisite

CLSI Protokolü EP7-A2 kılavuz alınarak spesifisite çalışmaları yapılmıştır.[18] Çapraz reaktivite mevcut temel takrolimus metabolitleri için test edilmiştir. Takrolimus ile rutin olarak uygulanan diğer ilaçlar da, QMS Takrolimus İmmün Testi kiti kullanılarak bu bileşiklerin topiramat konsantrasyonlarının nicelleştirilmesi üzerinde etkileri olup olmadığı test edilmiştir.

Metabolitlerin çapraz reaktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Çapraz Reaktivite (\%)} = \frac{\text{Ölçülen konsantrasyon - Beklenen konsantrasyon}}{\text{Çapraz Reaktan konsantrasyonu}} \times 100$$

Takrolimus metabolitleri ile çapraz reaktivite

QMS Takrolimus İmmün Testi kitinin önemli takrolimus metabolitlerine çapraz reaktivitesi aşağıdaki tabloda sunulmuştur. Test edilen bileşenler iki konsantrasyon takrolimus ilacı içeren insan tam kanı numunelerine eklenmiştir ve üçlü tekrarlar halinde test edilmiştir. Çapraz reaktivite yüzdesi hesaplanmıştır.

Takrolimus Metabolitleri	Metabolit Konsantrasyonu (ng/ml)	Beklenen konsantrasyon (ng/ml)	Ölçülen Konsantrasyon (ng/ml)	Geri Kazanım (%)	Çapraz Reaktivite (%)
M-I (13-O-demetil)	20	5,8	7,6	131,0	9,2
	20	13,3	14,8	111,3	7,7
M-II (31-O-demetil)	20	5,7	5,9	103,5	0,7
	20	13,2	13,1	99,2	-0,5
M-III (15-O-demetil)	20	5,3	6,0	113,2	3,8
	20	12,4	13,0	104,8	2,7
M-IV (12-hidroksi)	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-didemetil)	20	5,4	7,3	135,2	9,3
	20	13,4	14,7	109,7	6,7
M-VII (13,15-O-didemetil) + M-VI (13,31-O-didemetil)	20	5,4	5,8	107,4	2,2
	20	13,4	13,8	103,0	2,0

Geri Kazanım (%) = (Ölçülen Konsantrasyon ÷ Beklenen Konsantrasyon) x 100

Takrolimus Metaboliti M-IV'nin gözlenen çapraz reaktivitesi ≤ %174,8 olmuştur. Takrolimus Metaboliti M-V ve M-VIII olası çapraz reaktiviteyi belirlemek için değerlendirilmemiştir.

Takrolimus hastadan alınan numuneler, ana ilaca orana düşük konsantrasyonu takrolimus metaboliti içerir (M-I yaklaşık %6, M-II %15, M-III %6 ve neredeyse saptanamayacak M-IV). [9,12,19]

Etkileşen Maddeler

CLSI protokolü EP7-A2 kılavuz alınarak interferans çalışmaları yapılmıştır.[18] QMS Takrolimus İmmün Testi Kiti, potansiyel interferans olup olmadığını görmek için takrolimusla uygulanan ilaçlar ve yaygın ilaçlarla test edilmiştir. Test edilen bileşenler yaklaşık 5 ve 12 ng/ml takrolimus ilacı içeren insan tam kan numunelerine eklenmiştir ve QMS Takrolimus test kiti kullanılarak test edilmiştir. %10 hatadan büyük takrolimus konsantrasyonunun geri kazanımının testle interferansı olduğu düşünülmüştür. Aşağıdaki tabloda listelenen konsantrasyonlarda test edilen bileşikler test kiti ile interferans göstermemiştir. Takrolimusun ortalama geri kazanım yüzdesi %91 ila %109 arasında değişim göstermiştir.

Bileşik	Konsantrasyon (ng/ml)	Bileşik	Konsantrasyon (ng/ml)
Asetaminofen	200.000	Kanamisin B Sülfat	100.000
Asikloguanozin / Asiklovir	1.000.000	Ketokonazol	100.000
Allopürinol	50.000	Labetalol	17.100
Amikasin Sülfat	150.000	Lidokain	100.000
Amfoterisin B	100.000	Lityum	35.000
Ampisilin	100.000	Lovastatin	20.000
Apresolin / Hidralazin	100.000	Metilprednizolon	100.000
Atenolol	40.000	Metoklopramid	100.000
Azatiyoprin	100.000	Minoksidil	60.000
Azitromisin	5.000	Morfin Sülfat	100.000
Bromokriptin / 2-Bromo-α-ergokriptin	8.000	Mikofenolik asit	100.000
Karbamazepin	120.000	N-Asetilprokainam	120.000

Tablonun Devamı

Bileşik	Konsantrasyon (ng/ml)	Bileşik	Konsantrasyon (ng/ml)
Sefazolin	150.000	Nadolol	1.200
Seftriakson	500.000	Naproksen	100.000
Sefalosporin C	100.000	Nikardipin	500
Klorpromazin	50.000	Nikotin	20.000
Kloramfenikol	250.000	Nifedipin	100.000
Klordiazepoksit	20.000	Penisilin G	100.000
Klorokuin	1.500	Pentobarbital	100.000
Simetidin	100.000	Fenobarbital	150.000
Siprofloksasin	7.400	Fenitoin	100.000
Klaritromisin	5.000	Prazosin	100.000
Klonidin	100	Prednisolon	100.000
Kolsişin	90	Prednison	100.000
Kortizon	1.200	Primidon	100.000
Siklospirin / Siklospirin A	10.000	Probukol	600.000
Diazepam	20.000	Prokainamit	100.000
Digitoksin	100.000	Propoksifen	4.000
Digoksin	10.000	Propranolol	40.000
Diltiazem	60.000	Kinidin	100.000
Disopiramid	100.000	Ranitidin	200.000
Eritromisin	200.000	Rifampin / Rifampisin	100.000
Etosuksimid	300.000	Salisilik Asit	500.000
Everolimus	100	Sirolimus (Rapamisin)	300
Famotidin	10.000	Spektinomisin	100.000
Flukonazol	100.000	Streptomisin	100.000
Flusitozin / 5-Florositozin	40.000	Sülfametoksazol	150.000
Furosemit	100.000	Teofilin	250.000
Gansiklovir	1.000.000	Tiklopidin	150.000
Gemfibrozil	100.000	Tobramisin	100.000
Gentamisin	120.000	Triamteren	100.000
Hidroklorotiazit	40.000	Trimetoprim	40.000
Hidrokortisol	100.000	Valproik Asit	500.000
İbuprofen	400.000	Vankomisin	100.000
İtrakonazol	100.000	Verapamil	100.000
Kanamisin A Sülfat	100.000		

Aşağıdaki potansiyel etkileşen endojen maddeler, QMS Takrolimus İmmün Test Kitiyle belirtilen konsantrasyonlarda test edildiğinde %92 ila %108 geri kazanım göstermiştir.

Potansiyel Etkileşen Madde	Konsantrasyon
Albümin	12 g/dl
Bilirubin	60 mg/dl
Kolesterol	500 mg/dl
Kreatinin	5 mg/dl
Trigliserit	1.500 mg/dl
Urik Asit	20 mg/dl
IgG Gamma Globulin	12 g/dl
Romatoid Faktörü	500 IU/ml
HAMA*	400 ng/ml
Hematokrit	%12 - %64

*HAMA = insan anti fare antikorları

KAYNAKÇA

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.

SÖZLÜK:

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

Üretici:
Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Ücretsiz ABD: 800-626-0690

EC REP
AB Yetkili Temsilcisi:
B·R·A·H·M·S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany

Customer Service
Ücretsiz ABD: 1-800-232-3342
Diğer ülkeler: Lütfen yerel Microgenics temsilcinize başvurun.

Bio-Rad Lyphocheck® Bio-Rad'ın tescilli ticari markasıdır ®.
MORE Diagnostics Controls MORE Diagnostics, Inc'e aittir.
ARCHITECT Abbott Laboratories'in tescilli ticari markasıdır®.
Tüm diğer ticari markalar Thermo Fisher Scientific Inc. ve iştiraklerinin malıdır.
© 2018 Thermo Fisher Scientific Inc. Tüm hakları saklıdır.

Prospektüs güncellemeleri için şuraya gidin:
www.thermofisher.com/diagnostics

10015557-15-TR
2023 12

thermo scientific