

Tacrolimus

Takrolimas

REF		SYSTEM
05889057 190	100	Elecsys 2010 MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Lietuvių

Paskirtis

Imunologinis kiekybinis in vitro tyrimas, skirtas takrolimo koncentracijos nustatymui žmogaus visame kraujyje. Tyrimas yra naudojamas kaip pagalbinė priemonė gydant pacientus po širdies, kepenų ir inkstų transplantacijos, gaunantiems gydymą takrolimu.

Elektrochemiluminescencinis imunologinis tyrimas (angl. **electrochemiluminescence immunoassay-ECLIA**) yra skirtas naudoti Elecsys ir **cobas e** imunologiniuose analizatoriuose.

Santrauka

Takrolimas (taip pat vadinamas FK506) yra makrolidinis antibiotikas, atrastas kaip Actinobacterium Streptomyces tsukubaensis produktas 1984 metais Japonijoje.^{1,2,3} Tyrimai parodė, kad takrolimas yra 10-100 kartų aktyvesnis nei ciklosporinas, inhibuojant kai kuriuos imuninius atsakus.⁴

Pagrindinis takrolimo veikimo mechanizmas, kurio dėka pasiekiamas imunosupresinis poveikis, manoma, yra T ląstelių aktyvacijos ir proliferacijos slopinimas. Intraląstelinis takrolimas jungiasi su imunofilinu, vadinamu FK506-prijungiančiu baltymu (FKBP-12), o šie kompleksai slopina kalcineurino fermentinį aktyvumą.⁵ Kalcineurino inhibicija neleidžia įvykti aktyvuotų T ląstelių branduolio faktoriaus (NFAT), kuris reguliuoja kai kurių citokinų transkripciją, tame tarpe IL-2, IL-4, TNF- α ir interferono- γ , defosforilinimui ir nuklearinei translokacijai, taigi apriboja limfocitų aktyvumą ir proliferaciją.^{6,7,8,9,10}

Takrolimas yra labai lipofiliskas, o jo absorbcija yra nepilna ir variabili. Po absorbcijos takrolimas jungiasi su baltymais ir eritrocitais, 99 % vaisto plazmoje yra sujungti su albuminu arba α -1-glikoproteinu.¹¹

Takrolimo bioprieinamumas ir metabolizmas yra daugiausiai veikiami citochromo P450 izofermentų CYP3A4 ir CYP3A5 aktyvumo, taip pat šalinimo siurblio p-glikoproteino, kurių ekspresijai ir funkcijai būdingas reikšmingas inter- ir intra-individualus variabilumas.^{12,13,14}

Takrolimui būdingas didelis inter- ir intra-pacientų variabilumas, taip pat potencialiai sunkūs nepageidaujami poveikiai dėl dozių, kurios per mažos arba per didelės. Neadekvati takrolimo koncentracija gali sukelti sunkius nepageidaujamus poveikius. Pagrindiniai su takrolimu susiję nepageidaujami poveikiai apima nefrotoksiškumą, neurotoksiškumą, virškinamojo trakto sutrikimus, diabetogenezę, hipertenziją ir piktybines komplikacijas.^{15,16}

Terapinio vaistų monitoringo (TVM) ir pagal koncentraciją kontroliuojamo dozavimo taikymas, siekiant palaikyti kiekvieno paciento vaistų koncentraciją siauro terapinio lango ribose, daugelį metų yra standartinės klinikinės praktikos dalis ir yra pagrindinis pacientų priežiūros pagalbinis veiksnys.^{16,17} Minimalios koncentracijos (prieš vartojant kitą vaisto dozę, angl. trough) (C0) monitoringas vis dar yra plačiai naudojamas kaip pagrindinis veiksnys individualizuojant takrolimo dozės poreikį, nors vis dar išlieka kontroversijos dėl ryšio tarp C0 ir klinikinių išiečių. Plotas po koncentracijos-laiko kreive (AUC0-12) yra laikomas geriausiu koncentracijos žymeniu, bet yra brangus ir nepraktiškas. Siekiant įvertinti kitų strategijų be C0 veiksmingumą, reikalingi daugiacentriniai perspektyviniai tyrimai.¹⁶

Tyrimo principas

Rankinė precipitacija:

Prieš atliekant Elecsys Tacrolimus tyrimą, mėginiai, kalibratoriai ir kontrolinės medžiagos turi būti **paruošti**, naudojant Elecsys ISD Sample Pretreatment.

Reagentas lizuoja ląsteles, ekstrahuoja takrolimą ir sudaro precipitatus su daugeliu kraujo baltymų. **Paruošti** mėginiai centrifuguojami ir porcijos susidariusio viršutinio sluoksnio (supernatanto), kuriame yra takrolimas, tiriama naudojant Elecsys Tacrolimus tyrimą.

Konkurencijos principas. Bendra tyrimo trukmė: 18 minučių.

- 1-oji inkubacija: 35 μ L paruošto mėginio inkubuojami su takrolimui-specifiškais biotinilintais antikūnais ir rutenio kompleksu^{a)} žymėtais takrolimo-derivatais. Priklausomai nuo analizės koncentracijos mėginyje ir atitinkamo imuninio komplekso susidarymo, žymėto antikūno prisijungimo vieta užimama iš dalies mėginio analite ir iš dalies rutenilintu haptenu.
- 2-oji inkubacija: Pridėjus streptavidinu dengtų mikrodalelių, sąveikaujant biotinui ir streptavidinui, kompleksas prisijungia prie kietosios fazės.
- Reakcijos mišinys įsiurbiamas į matavimo kamerą, kurioje ant elektrodo paviršiaus magnetiniu būdu surenkamos mikrodalelės. Nesurištos medžiagos pašalinamos naudojant ProCell/ProCell M. Prie elektrodo prijungus elektros srovę skatinama chemiluminescencinė emisija, kurios dydis išmatuojamas fotodaugintuvu.
- Rezultatai nustatomi iš kalibravimo kreivės, kuri kiekvienam analizatoriui generuojama iš 2 taškų kalibravimo ir iš pagrindinės kreivės, pateikiamos su reagentų brūkšninio kodu.

a) Tris(2,2'-bipiridil)rutenio(II)-kompleksas (Ru(bpy)₃²⁺)

Reagentai - darbiniai tirpalai

Ši reagentų stovo pakuotė yra pažymėta TCL.

- M Streptavidinu dengtos mikrodalelės (permatomas dangtelis), 1 buteliukas, 6.5 mL:
Streptavidinu dengtos mikrodalelės, 0.72 mg/mL; konservantas.
- R1 Anti-Takrolimo-S-Ab~biotinas (pilkas dangtelis), 1 buteliukas, 10 mL:
Biotinilinti monokloniniai anti-takrolimo-antikūnai (avies) 15 μ g/L; fosfato buferis 100 mmol/L, pH 7.8; konservantas.
- R2 Takrolimas~Ru(bpy)₃²⁺ (juodas dangtelis), 1 buteliukas, 8 mL:
Takrolimo-derivatas, pažymėtas rutenio kompleksu 4 μ g/L; citrato buferis 10 mmol/L, pH 3.3; konservantas.

Atsargumo priemonės ir įspėjimai

Skirta naudoti in vitro diagnostikai.

Laikykitės įprastų atsargumo priemonių, būtinų dirbant su visais laboratorijos reagentais.

Visos atliekos turi būti tvarkomos laikantis vietos reikalavimų.

Saugos duomenų lapas pateikiamas profesionaliems naudotojams paprašius.

Dirbdami su visų rūšių reagentais ir mėginiais (mėginiais, kalibratoriais ir kontrolinėmis medžiagomis) venkite putų susidarymo.

Reagentų paruošimas

Visi rinkinio reagentai paruošti naudojimui, jų negalima naudoti atskirai nuo rinkinio.

Visa informacija, reikalinga tinkamam tyrimo atlikimui, gali būti nuskaitoma nuo atitinkamo reagento brūkšninio kodo.

Laikymo sąlygos ir stabilumas

Laikyti 2-8 °C temperatūroje.

Neužšaldykite.

Laikykite Elecsys reagentų rinkinį **statmenai**, kad mikrodalelės būtų visiškai prieinamos prieš procedūrą atliekamą automatinio maišymo metu.

Stabilumas:	
neatidarius, 2-8 °C temperatūroje	iki nurodytos galiojimo datos
atidarius, 2-8 °C temperatūroje	84 dienos
analizatoriuose	56 dienos

Tacrolimus

Takrolimas

Mėginių surinkimas ir paruošimas

Buvo patikrintas pakankamai didelis mėginių kiekis ir yra priimtini tik žemiau išvardinti mėginiai.

K₂-EDTA ir K₃-EDTA visas kraujas.

Mėginiai, surinkti į EDTA mėgintuvėlius iki tyrimo 15-25 °C temperatūroje gali būti laikomi 5 dienas arba 7 dienas 2-8 °C temperatūroje. Jeigu tyrimas bus atidėtas daugiau nei 7 dienas, laikykite užšaldytus -20 °C ar žemesnėje temperatūroje iki 6 mėnesių. Užšaldyti tik vieną kartą. Po atšildymo mėginiai turi būti gerai išmaišomi, kad būtų užtikrinta rezultatų kokybė.

Išvardintų rūšių mėginiai buvo tiriami, pasirinkus tyrimo metu rinkoje buvusius mėgintuvėlius, t.y. nebuvo patikrinti visų gamintojų mėgintuvėlių. Įvairių gamintojų mėginių surinkimo sistemose gali būti skirtingų medžiagų, kurios kai kuriais atvejais gali paveikti tyrimo rezultatus. Jei mėginius apdorojate pirminiuose mėgintuvėliuose (mėginių surinkimo sistemose), laikykitės mėgintuvėlių gamintojo instrukcijų.

Atšildytus mėginius gerai išmaišykite ranka, besisukančiu ar horizontalaus judesio maišytuvu. Vizualiai įvertinkite mėginius. Jeigu stebimas susisluoksniavimas ar stratifikacija, maišykite kol mėginiai vizualiai pasidarys homogeniški.

Nenaudokite mėginių, inaktyvintų dėl karščio poveikio.

Nenaudokite mėginių ir kontrolių, kurių stabilizavimui buvo naudotas azidas.

Užtikrinkite, kad mėginiai, kalibratoriai ir kontrolinės medžiagos prieš paruošimą būtų 20-25 °C temperatūros.

Dirbdami su pacientų mėginiais elkitės atsargiai, kad išvengtumėte kryžminio užteršimo. Rekomenduojama naudoti vienkartinės pipetės ar pipetų antgalius.

Paruošti mėginiai gali būti laikomi uždarytuose mėgintuvėliuose iki 4 valandų 20-25 °C temperatūroje.

Dėl garavimo poveikio, paruošti mėginiai turėtų būti išanalizuoti/išmatuoti per 30 minučių po buteliukų atidarymo ir mėginių patalpavimo į analizatorių. Venkite delsimo tarp patalpavimo ir matavimo, kad užtikrintumėte paruoštų mėginių 30 minučių stabilumą.

Pakartotino tyrimo funkcijai reikalingas rankinis paruošimo procedūros pakartojimas.

Pateiktos medžiagos

Apie reagentus skaitykite skyriuje „Reagentai - darbiniai tirpalai“.

Reikalingos (bet nepateikiamos) medžiagos

- [REF] 05889073190, ISD Sample Pretreatment, 1 x 30 mL
- [REF] 05889065190, Tacrolimus CalSet, skirtas 6 x 1 mL
- [REF] 05889081190, PreciControl ISD, skirtas 3 x 3 mL kiekvienam iš PreciControl ISD 1, 2 ir 3
- [REF] 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 mL mėginių skiediklis arba [REF] 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 mL mėginių skiediklis
- [REF] 11776576322, CalSet Vials, 2 x 56 tušti buteliukai su užspaudžiamais dangteliais
- Bendra laboratorijos įranga
- Tikslios pipetės (darbui su ISD Sample Pretreatment reagentu naudokite tik teigiamo poslinkio pipetę)
- Mikrocentrifugavimo mėgintuvėliai (2.0 mL talpos)
- Mikrocentrifuga (mažiausiai 10000 g)
- Sukurinis maišytuvas
- Sukamasis arba horizontalaus judesio maišytuvas
- Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 arba **cobas e** analizatorius

Elecsys 2010 ir **cobas e** 411 analizatorių priedai:

- [REF] 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL sistemos buferis
- [REF] 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL matavimo kameros valymo tirpalas
- [REF] 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL plovimui skirtas vandens priedas
- [REF] 11933159001, Adapter for SysClean, adapteris
- [REF] 11706802001, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 reakcijų indeliai
- [REF] 11706799001, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pipetų antgalių

MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e** 601 ir **cobas e** 602 analizatorių priedai:

- [REF] 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L sistemos buferis
- [REF] 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L matavimo kameros valymo tirpalas
- [REF] 03023141001, PC/CC-Cups, 12 puodelių ProCell M ir CleanCell M paruošiamajam sušildymui prieš naudojimą
- [REF] 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL valymo tirpalas finalizavimo etapui ir praplovimui reagentų keitimo metu
- [REF] 03004899190, PreClean M, 5 x 600 mL matavimo sistemos valymo tirpalas
- [REF] 12102137001, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 dėtuves x 84 reakcijos indeliai ar pipetų antgaliams, atliekų maišeliai
- [REF] 03023150001, WasteLiner, atliekų maišeliai
- [REF] 03027651001, SysClean Adapter M, adapteris

Priedai visiems analizatoriams:

- [REF] 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL sistemos valymo tirpalas

Rankinis mėginių paruošimas

Paruošdami kalibratorius, kontrolines medžiagas ir/ar mėginius, laikykitės žingsnių, išvardintų žemiau. **Techninės pastabos yra esminė instrukcijų dalis ir turi būti atidžiai perskaitytos prieš atliekant kiekvieną žingsnį.** Paruošdami kalibratorius, kontrolines medžiagas ir/ar mėginius, laikykitės žingsnių nuo 1 iki 7.

Žingsniai	Techninės pastabos
1. Leiskite visiems reagentams, kalibratoriams, kontrolinėms medžiagoms ir mėginims nusistovėti 20-25 °C temperatūroje. Prieš pat naudojimą švelniai, bet kruopščiai sumaišykite visus kalibratorius, kontrolines medžiagas ir mėginius.	Nesuplakite. Skysčiai gali būti maišomi ranka, naudojant sukamąjį ar horizontalaus judesio maišytuvą. Kalibratoriai ir kontrolinės medžiagos yra viso kraujo hemolizatai ir gali savo išvaizda šiek tiek skirtis nuo viso kraujo mėginių.
2. Pažymėkite vieną mikrocentrifugavimo mėgintuvėlį etikete kiekvienam kalibratoriui, kontrolinei medžiagai ir/ar mėginiui, kurie turi būti paruošti.	nėra
3. Naudodami tikslią pipetę perkeltite 300 µL kiekvieno kalibratoriaus, kontrolinės medžiagos ir/ar mėginio, į atitinkama etikete pažymėtą mikrocentrifugavimo mėgintuvėlį.	Naudokite naują pipetės antgalį kiekvienam kalibratoriui, kontrolinei medžiagai ir/ar mėginiui.
4. Naudodami tikslią pipetę į kiekvieną mikrocentrifugavimo mėgintuvėlį pridėkite 300 µL ISD Sample Pretreatment reagento. Nedelsiant uždarykite kiekvieną mėgintuvėlį ir iškart pereikite prie 5 žingsnio.	Atkreipkite dėmesį: ISD Sample Pretreatment yra labai lakus. Kad išvengtumėte išgaravimo, kai nenaudojate laikykite sandariai uždarytą.
5. Sukuriniu maišytuvu maišykite kiekvieną mikrocentrifugavimo mėgintuvėlį mažiausiai 10 sekundžių. Nesėkmė atliekant šį žingsnį gali pasireikšti kaip raudonos išvaizdos paviršinio sluoksnio (supernatanto) susidarymas. Žr. 6 žingsnį, techninę pastabą.	Atkreipkite dėmesį: Kiekvieno mėgintuvėlio neišmaišymas iškart po ISD Sample Pretreatment reagento pridėjimo nulems klaidingus tyrimo rezultatus. Mėginio ir reagento mišinys turėtų būti homogeniškas iš karto po maišymo. Reikia vizualiai įvertinti mėginį.

Tacrolimus

Takrolimas



Žingsniai	Techninės pastabos
6. Centrifuguokite mėginį mažiausiai 4 minutes mikrocentrifugoje (≥ 10000 g)	Centrifuguoti mėginiai turėtų turėti aiškias nuosėdas ir skaidrų paviršinį sluoksnį (supernatantą). Supernatantas neturėtų būti drumstas ar raudonos spalvos. Jeigu supernatantas yra raudonas, išmeskite jį ir pakeiskite naujai ekstrahuotą mėginį.
7. Perkelkite kiekvieną supernatantą tiesiai į atitinkamą buteliuką ir nedelsiant uždarykite kiekvieną buteliuką. Mėginiai yra paruošti tyrimui.	Paruošti mėginiai gali būti laikomi uždarytuose mėgintuvėliuose iki 4 valandų 20-25 °C temperatūroje. Atkreipkite dėmesį: Dėl garavimo poveikio, paruošti mėginiai turėtų būti išanalizuoti/išmatuoti per 30 minučių po buteliukų atidarymo ir mėginių patalpinimo į analizatorių. Venkite delsimo tarp patalpinimo ir matavimo, kad užtikrintumėte paruoštų mėginių 30 minučių stabilumą. Tam padeda takrolimo mėginių tyrimai "batch" režimu: Remiantis vidutiniu sistemos mėginių tyrimo laiku, į vieną kalibruotą analizatoriaus matavimo kamerą vienu metu gali būti patalpinami ne daugiau nei 35 takrolimo mėginiai.

Tyrimas

Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, laikykitės šiame dokumente pateiktų analizatoriaus naudojimo instrukcijų. Specifines analizatoriui tyrimo instrukcijas skaitykite atitinkamame naudotojo vadove.

Mikrodalelės pakartotinai suspenduojamos automatiškai, prieš panaudojimą. Specifinius tyrimo parametrus nuskaitykite iš reagento brūkšninio kodo. Išimtiniais atvejais, kai neįmanoma nuskaityti brūkšninio kodo, įveskite 15-os ženklų skaitmenų seką.

MODULAR ANALYTICS E170, **cobas e 601** ir **cobas e 602** analizatoriai: Reikia turėti PreClean M tirpalą.

Atvėsintus reagentus sušildykite iki maždaug 20 °C temperatūros ir įstatykite į analizatoriaus reagentų diską (20 °C). Venkite putų susidarymo. Sistema automatiškai reguliuoja reagentų temperatūrą ir buteliukų atidarymą/uždarymą.

Kalibravimas

Atsekamumas: Šis metodas buvo standartizuotas pagal pamatinius etalonus, kurie pagal svorį atsekami pagal takrolimo pamatinę medžiagą (USP = Unites States Pharmacopeia).

Kiekviename Elecsys reagentų rinkinyje yra etiketė su brūkšninio kodo, joje – konkrečiai tam tikros reagentų partijos kalibravimui reikalinga informacija. Numatytoji pagrindinė kreivė yra pritaikoma analizatoriui, naudojant atitinkamą CalSet.

Tacrolimus CalSet prieš kalibravimą turi būti šviežiai paruoštas.

Kalibravimo dažnis: kalibravimas turi būti atliekamas po vieną kartą su kiekviena reagentų partija, naudojant šviežią reagentą (t. y. praėjus ne daugiau nei 24 valandoms nuo reagentų rinkinio registravimo analizatoriuje). Kalibravimo atnaujinimas rekomenduojamas:

- po 1 mėnesio (28 dienų), naudojant tos pačios partijos reagentus
- po 7 dienų (analizatoriuje naudojant tą patį reagentų rinkinį)
- pagal poreikį: pvz.: jei kokybės kontrolės rezultatai nepatenka į nurodytas ribas

Kokybės kontrolė

Kokybės kontrolei naudokite PreciControl ISD.

PreciControl ISD prieš matavimą turi būti šviežiai paruoštas.

Papildomai galima naudoti kitą tinkamą kontrolinę medžiagą.

Skirtingiems koncentracijų intervalams skirtos kontrolės turėtų būti atliekamos atskirai (kiekviena) bent kartą per 24 valandas, kai tyrimas yra naudojamas; vieną kartą - vienam reagentų rinkiniui, taip pat po kiekvieno kalibravimo.

Kontrolės intervalai ir apribojimai turėtų atitikti kiekvienos laboratorijos individualius reikalavimus. Gautos reikšmės turėtų patekti į nustatytas ribas. Kiekviena laboratorija turi numatyti korekcines priemones, kurių reiktų imtis, reikšmėms nepatekus į nustatytas ribas.

Vadovaukitės nustatytais valstybiniais ir vietiniais reikalavimais kokybės kontrolei užtikrinti.

Skaiciavimas

Analizatorius automatiškai apskaičiuoja kiekvieno mėginio analitės koncentraciją (ng/mL, nmol/L arba µg/L).

Perskaiciavimo faktoriai: $\text{ng/mL} \times 1.0 = \mu\text{g/L}$
 $\text{ng/mL} \times 1.2438 = \text{nmol/L}$

Apribojimai - poveikiai

Buvo ištirtas šių endogeninių medžiagų, vaistinių medžiagų ir klinikinių būklių poveikis tyrimui. Poveikis tirtas iki nurodytų koncentracijų, poveikis rezultatams nebuvo stebėtas.

Kriterijus: Vertės suradimas ± 0.3 ng/mL (koncentracija > 0.5 -2 ng/mL) arba $\pm 20\%$ (koncentracija > 2 -40 ng/mL) pradinės reikšmės ribose.

Endogeninės medžiagos:

Medžiaga	Tirta koncentracija
Albuminai	≤ 12.0 g/dL
Bilirubinas	≤ 1026 µmol/L arba ≤ 60.0 mg/dL
Biotinas	< 30.0 ng/mL arba < 123 nmol/L
Cholesterolis	≤ 500 mg/dL
HASA	≤ 10.0 µg/mL
Hematokritas	15-60 %
IgG	≤ 12.0 g/dL
Intralipidai	≤ 1500 mg/dL
Reumatoidinis faktorius	iki 500 IU/mL
Šlapimo rūgštis	≤ 20.0 mg/dL

Pacientams, gydomiems didelėmis biotino dozėmis (t.y. > 5 mg/parai), kraujo mėginį galima imti praėjus ne mažiau kaip 8 valandoms po paskutinės biotino dozės suvartojimo.

Vaistiniai junginiai:

Buvo atlikti in vitro tyrimai su 15 dažniausiai naudojamų medikamentų. Poveikis tyrimui nebuvo nustatytas. Kriterijus: vertės suradimas $\pm 20\%$ pradinės reikšmės ribose.

Papildomai buvo ištirti 27 specialūs vaistai. Buvo nustatyta sąveika su itrakonazoliu (tarptautinis prekių ženklų neregistruotas pavadinimas, angl. international nonproprietary name - INN). Nenaudokite mėginių paimtų iš pacientų, gydomų itrakonazoliu.

Vaistas	Tirta koncentracija
Acikloviras	3.2 µg/mL
Amfotericinas B	5.8 µg/mL
Ciprofloksacinas	7.4 µg/mL
Ciklosporinas	5000 ng/mL
K ₂ -EDTA	6 mg/mL
K ₃ -EDTA	6 mg/mL
Eritromicinas	20 mg/dL
Everolimas	60 ng/mL
Flukonazilis	30 µg/mL

Tacrolimus

Takrolimas



Vaistas	Tirta koncentracija
Flucitozinas	40 µg/mL
Gancikloviras	1000 µg/mL
Gentamicinas	12 mg/dL
Itrakonazolis	50 µg/mL
Kanamocinas	100 µg/mL
Ketokonazolis	50 µg/mL
Lidokainas	6 mg/dL
MPA (mikofenolio rūgštis) gliukuronidas	1800 µg/mL
Mikofenolio rūgštis	500 µg/mL
Nitrofurantoinas	6 µg/mL
Fenobarbitalis	15 mg/dL
Rifampicinas	5 mg/dL
Sirolimas	60 ng/mL
Spektinomocinas	100 µg/mL
Sulfometoksazolis	200 µg/mL
Tobramicinas	2 mg/dL
Trimetoprimas	40 µg/mL
Vankomicinas	6 mg/dL

Retais atvejais gali pasitaikyti trukdžių dėl ypač didelių specifinių tyrimo antikūnų, rutenio ar streptavidino antikūnų titrų. Šių trukdžių įtaką sumažina tam pritaikyta tyrimo procedūra.

Diagnozuojant, rezultatai visada turėtų būti vertinami kartu su paciento anamneze, fizinio ištyrimo duomenimis ir kitais radiniais.

Apribojimai ir reikšmių ribos

Matavimų ribos

0.5-40 ng/mL (apibrėžiamos pagal nustatymo ribą ir pagrindinės kreivės maksimumą). Reikšmės, esančios žemiau nustatymo ribos, yra pateikiamos, kaip < 0.5 ng/mL. Reikšmės, esančios aukščiau matavimo ribos, yra pateikiamos kaip > 40 ng/mL.

Matavimo reikšmių apatinės ribos

Tuščioji riba (angl. Limit of Blank - LoB), aptikimo riba (angl. Limit of Detection - LoD) ir kiekio nustatymo riba (angl. Limit of Quantitation - LoQ)

Tuščioji riba = 0.3 ng/mL

Nustatymo riba = 0.5 ng/mL

Kiekybinio nustatymo riba = 1.0 ng/mL su bendra leistina paklaida ≤ 20 %

Tuščioji riba, aptikimo riba ir kiekybinio nustatymo riba buvo nustatyta pagal CLSI (Klinikinių ir laboratorinių standartų institutas, angl. Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A reikalavimus.

Tuščioji riba yra 95-osios procentilės vertė, gauta iš mėginių, kuriuose nebuvo analizuojamosios medžiagos n ≥ 60 matavimų keliose nepriklausomose serijose. Tuščioji riba atitinka mažiausią koncentraciją, žemiau kurios tikimybė aptikti mėginius be analizuojamosios medžiagos yra 95 %.

Aptikimo riba yra nustatoma pagal tuščiąją ribą ir mažos koncentracijos mėginių standartinį nuokrypį. Nustatymo riba atitinka žemiausią analitės koncentraciją, kurią galima nustatyti (reikšmė virš tuščiojo matavimo ribos su 95 % tikimybe).

Kiekybinio nustatymo riba yra apibrėžiama kaip mažiausias analitės kiekis mėginyje, kurį galima tiksliai nustatyti, kai bendra leidžiama paklaida yra ≤ 20 %.

Skiedimas

Mėginiai, kurių takrolimo koncentracija yra virš matavimų ribos, prieš rankinio paruošimo procedūrą gali būti rankiniu būdu skiedžiami santykiu 1:3, naudojant Diluent Universal. Atskiesto mėginio koncentracija turi būti > 5 ng/mL.

Po rankiniu būdu atliekamo skiedimo rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

Tikėtinos reikšmės

Pastovių terapinių reikšmių takrolimo koncentracijai visame kraujyje nėra. Klinikinės būklės kompleksškumas, individualus jautrumas imunosupresiniam ir nefrotoksiniam takrolimo poveikiui, kitų imunosupresantų vartojimas, transplantato tipas, laikas po transplantacijos ir kiti veiksniai sąlygoja skirtingus reikalavimus optimaliai takrolimo koncentracijai kraujyje. Individualios takrolimo reikšmės negali būti naudojamos kaip vienintelis indikatorius keičiant gydymo režimą. Kiekvienas pacientas turėtų būti kruopščiai kliniškai ištirtas prieš atliekant gydymo pakeitimus, ir kiekvienas tyrėjas turi nusistatyti savus intervalus remdamasis klinicine patirtimi.

Šie intervalai skirsis priklausomai nuo naudojamų komercinių in vitro diagnostinių tyrimų. Intervalai turi būti nustatyti kiekvienam naudojam komerciniam tyrimui.

Specifiniai tyrimo atlikimo duomenys

Toliau pateikiami atitinkamų analizatorių tyrimo charakteristikų duomenys. Atskirose laboratorijose gauti rezultatai gali skirtis.

Glaudumas

Glaudumas buvo nustatytas, naudojant Elecsys reagentus, mėginius ir kontrolines medžiagas, pagal CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) protokolą (EP5-A2): 2 tyrimai per dieną, po du kartus, kiekvienas vykdomas 21 dieną (n = 84). Buvo gauti šie rezultatai:

Elecsys 2010 ir cobas e 411 analizatoriai					
		Atkartojamumas		Tarpinis glaudumas	
Mėginys	Vidurkis ng/mL	SN ng/mL	CV %	SN ng/mL	CV %
ŽMM ^{b)} 1	1.28	0.064	5.0	0.182	14.2
ŽMM 2	9.14	0.231	2.5	0.513	5.6
ŽMM 3	18.5	0.471	2.6	0.600	3.3
ŽMM 4	30.7	0.699	2.3	0.824	2.7
PC ^{c)} ISD1	2.49	0.107	4.3	0.213	8.6
PC ISD2	10.2	0.196	1.9	0.383	3.7
PC ISD3	19.6	0.532	2.7	0.571	2.9

b) ŽMM = žmogaus mėginių mišinys

c) PC = PreciControl

MODULAR ANALYTICS E170, cobas e 601 ir cobas e 602 analizatoriai					
		Atkartojamumas		Tarpinis glaudumas	
Mėginys	Vidurkis ng/mL	SN ng/mL	CV %	SN ng/mL	CV %
ŽMM 1	1.20	0.059	4.9	0.124	10.4
ŽMM 2	8.97	0.225	2.5	0.349	3.9
ŽMM 3	18.3	0.355	1.9	0.649	3.5
ŽMM 4	31.3	0.684	2.2	1.59	5.1
PC ISD1	2.41	0.095	3.9	0.169	7.0
PC ISD2	10.0	0.221	2.2	0.298	3.0
PC ISD3	19.4	0.404	2.1	0.600	3.1

Metodų palyginimas

a) Palyginus Elecsys Tacrolimus tyrimą (y) su automatiniu imunologiniu tyrimu (x), naudojant klinikinius mėginius, gautos tokios koreliacijos:

Tirtų mėginių skaičius: 205

Passing/Bablok¹⁸

y = 0.958x - 0.0521

r = 0.922

Svertinė tiesinė regresija

y = 0.985x - 0.198

r = 0.981

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 0.6 iki 37.2 ng/mL.

Tacrolimus

Takrolimas

b) Palyginus Elecsys Tacrolimus tyrimą (y) su LC-MS-MS metodu (x), naudojant klininius mėginius, gautos tokios koreliacijos:

Tirtų mėginių skaičius: 206

Passing/Bablok¹⁸ Svertinė tiesinė regresija

$$y = 1.052x - 0.184$$

$$y = 1.059x - 0.196$$

$$r = 0.933$$

$$r = 0.996$$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 0.6 iki 37.2 ng/mL.

Analitinis specifiskumas

Buvo atlikta studija naudojant Elecsys Tacrolimus tyrimą, remiantis CLSI dokumento EP7-A2 rekomendacijomis.

Metabolitas	Maksimali pridėta metabolito koncentracija ng/mL	Kryžminis reaktyvumas %
M I	50	n. a. ^{d)}
M II	50	70
M III	50	n. a.
M IV	50	n. a.

d) n. a. = nebuvo aptikta

Kryžminis reaktyvumas buvo apibrėžiamas kaip "nebuvo aptikta", jeigu gautos reikšmės buvo mažesnės negu tyrimo jautrumas.

Nuorodos

- Kino T, Hatanaka H, Hashimoto M, et al. FK506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. I. Fermentation, isolation, and physico-chemical and biological characteristics. J Antibiot (Tokyo) 1987;40(9):1249-1255.
- 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 Antibiot (Tokyo) 1987;40(9):1256-1265.
- Wallemacq PE, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects. Clin Chem 1993;39(11 Pt 1):2219-2228.
- Scott LJ, McKeage K, Keam SJ, et al. Tacrolimus: a further update of its use in the management of organ transplantation. Drugs 2003;63(12):1247-1297.
- Siekierka JJ, Hung SH, Poe M, et al. A cytosolic binding protein for the immunosuppressant FK506 has peptidyl-prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin. Nature 1989;341(6244):755-757.
- Flanagan WM, Corthesy B, Bram RJ, et al. Nuclear association of a T-cell transcription factor blocked by FK-506 and cyclosporin A. Nature 1991;352:803-807.
- Jain J, McCaffrey PG, Miner Z, et al. The T-cell transcription factor NFATp is a substrate for calcineurin and interacts with Fos and Jun. Nature 1993;365:352-355.
- Shaw KT, Ho AM, Raghavan A, et al. Immunosuppressive drugs prevent a rapid dephosphorylation of transcription factor NFAT1 in stimulated immune cells. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:11205-11209.
- Clipstine NA, Crabtree GR. Identification of calcineurin as a key signalling enzyme in T-lymphocyte activation. Nature 1992;357:695-697.
- O'Keefe SJ, Tamura J, Kincaid RL, et al. FK-506 and CsA-sensitive activation of the interleukin-2 promoter by calcineurin. Nature 1992;357:692-694.
- Astellas Pharma. Prograf Package Insert. Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/050708s038lbl.pdf [Last accessed 01/03/2012].
- Benet LZ, Cummins CL, Wu CY. Unmasking the dynamic interplay between intestinal efflux transporters and metabolic enzymes. Int J Pharm 2004;277:3-9.

- de Jonge H, Naesens M, Kuypers DR. New insights into the pharmacokinetics and pharmacodynamics of the calcineurin inhibitors and mycophenolic acid: possible consequences for therapeutic drug monitoring in solid organ transplantation. Ther Drug Monit 2009;31:416-435.
- Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, et al. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. Pharmacogenomics 2007;8(7):835-849.
- Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplant recipients. Clin Pharmacokinet 2004;43:623-653.
- Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. Ther Drug Monit 2009;31:139-152.
- Schiff J, Cole E, Cantarovich M. Therapeutic monitoring of calcineurin inhibitors for the nephrologist. Clin J Am Soc Nephrol 2007;2:374-384.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Išsamesnės informacijos ieškokite jus dominančio analizatoriaus naudotojo vadove, atitinkamuose pritaikymo aprašuose, produkto informacijoje ir visų reikiamų komponentų pakuočių informaciniuose lapeliuose (jeigu jie prieinami jūsų šalyje).

Šiuose informaciniuose lapeliuose kaip dešimtainės trupmenos skyrikliis visada naudojamas taškas, skiriantis sveikąjį skaičių nuo dešimtainės trupmenos skaitmenų. Tūkstančių skyrikliai nenaudojami.

Simboliai

Roche Diagnostics papildomai naudoja šiuos simbolius ir ženklus, be išvardintų standarte ISO 15223-1.

CONTENT	Rinkinio turinys
SYSTEM	Analizatoriai/instrumentai, su kuriais gali būti naudojami reagentai
REAGENT	Reagentas
CALIBRATOR	Kalibratorius
→	Tūris po atskiedimo arba maišymo
GTIN	Visuotinis prekybos identifikacijos numeris (angl. Global Trade Item Number)

Reikšmingi papildymai ar pakeitimai yra pažymėti pakeitimų juosta parašėje.

© 2014, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

