

REF		SYSTEM
06327974 190	100	MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

## Lietuvių

## Paskirtis

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

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

## Santrauka

Sirolimas (dar vadinamas rapamicinu) yra makrociklinis antibiotikas, gaminamas *Streptomyces hygroscopicus* bakterijų. Pirmą kartą jis buvo aptiktas dirvožemio iš Velykų salų (Rapa Nui) mėginiuose. Sirolimas visu pirma buvo sukurtas kaip priešgrybinis preparatas. 1988 metais buvo nustatytos jo imunosupresinės savybės. FDA 1999 metais patvirtino sirolimą inkstų transplantato atmetimo prevencijai. mTOR inhibitoriai, kaip sirolimas ir everolimas, suteikia galimybę pacientams po transplantacijos vartoti mažiau kalcineurino inhibitorių, taigi potencialiai apsaugo nuo nefrotoksiškumo pacientams po ne inkstų transplantacijos ir pagerina ilgalaikį pacientų po inkstų transplantacijos alografto išgyvenamumą.<sup>1,2</sup>

Sirolimas yra proliferacinio signalo inhibitorius, blokuojantis augimo faktoriaus indukuotus transdukcijos signalus, kurie dalyvauja ląstelių dalijimui veikiant aloantigenams. Patekęs į ląstelę sirolimas prisijungia prie imunofilino FKBP-12, kuris taip pat yra ir citozolinis takrolimo receptorių. Sirolimo-FKBP-12 kompleksas jungiasi su mTOR, kuris atlieka tokias pagrindines funkcijas: 1) aktyvuoja p70 S6 kinazę, pagrindinį signalą perduodantį fermentą lemiantį DNR sintezę, ir 2) jungia eukariotų iniciacijos faktorių 4E (eIF-4E) su fosforilintu karščiui ir rūgštims stabilu baltymu I (PHAS-I), šis kelias svarbesnis baltymų sintezėje. Jungdamasis su mTOR, sirolimas blokuoja jo funkcijas, taigi slopina p70 S6 kinazės aktyvumą ir nulemia ląstelės ciklo sustabdymą nuo G1 iki S fazės. Šis mTOR poveikis slopina nuo interleukino (IL)-2 receptoriaus priklausomus ir nuo CD28 priklausomus signalinius kelius.<sup>1,3</sup>

Maksimali koncentracija ( $C_{max}$ ) pasiekama maždaug per 2 valandas nuo sirolimo suvartojimo. Absorbuotas cirkuliuojantis sirolimas gausiai jungiasi su plazmos baltymais (apytiksliai 92 %). Sirolimas yra CYP3A4 ir P-glikoproteino substratas ir yra metabolizuojamas kepenyse ir žarnų sienelėje, taip pat transportuojamas iš plonosios žarnos enterocitų atgal į žarnų spindį. Sirolimas yra metabolizuojamas O-demetilimo ir / ar hidroksilimo būdu į 7 pagrindinius metabolitus, kurie nustatomi visame kraujyje; pirminis junginys sudaro > 90 % imunosupresinio aktyvumo. Sirolimo, vartojamo stabilų pacientų po inkstų transplantacijos daugybinėmis dozėmis, skilimo pusperiodis yra apytiksliai 60 valandų.<sup>4</sup>

Dažni nepageidaujami poveikiai apima hipertenziją, hiperlipidemiją, anemiją, trombocitopeniją, elektrolitų sutrikimus (hipokalemiją ir hipofosfatemiją), periferines edemas, pilvo skausmus, artralgijas, odos pakitimus, karščiavimą, galvos skausmus, viduriavimą ir vidurių užkietėjimus, taip pat didesnį limfocelių dažnį.<sup>5</sup>

Minimalios (angl. trough) sirolimo koncentracijos (C0) terapinė stebėseną (TVS) yra būtina, ypač dėl didelių farmakokinetikos skirtumų tam pačiam individui ir tarp individų.<sup>2,6</sup> Laikomasi bendros nuomonės, kad mėginys prieš pat vaisto dozę (angl. trough arba C0) yra geras bendros ekspozicijos atspindys, vertinant pagal plotą po laiko-koncentracijos kreivę (angl. area under the time-concentration curve, AUC). Tarp sirolimo C0 koncentracijos ir AUC nustatyta gera koreliacija. Tai taip pat nustatoma ir kartu vartojant ciklosporiną ar takrolimą.<sup>7,8</sup>

Pagrindinė priežastis stebėti vaisto koncentraciją yra tai, kad dozė yra silpnai susijusi su vaisto ekspozicija. Kadangi sirolimo klirensas priklauso nuo kepenų kraujotakos, pacientams su sutrikusia inkstų funkcija turėtų būti mažinamos dozės pagal nustatytą sirolimo koncentraciją. Atidi vaisto koncentracijos stebėseną taip pat reikalinga dėl to, kad sirolimas yra metabolizuojamas citochromo P450-3A4 izofermento, kuris taip pat metabolizuoja daugelį kitų vaistų, taigi lemia vaistų sąveikas. Yra daug

duomenų apie vaistus, kurie gali nulemti sirolimo koncentracijos padidėjimą ar sumažėjimą, taip pat kaip ir vartojant ciklosporiną ar takrolimą.<sup>7</sup>

## Tyrimo principas

Rankinė precipitacija:

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

Reagentas lizuoja ląsteles, ekstrahuoja sirolimą ir sudaro precipitatus su daugeliu kraujo baltymų. **Paruošti** mėginiai centrifuguojami ir susidaręs viršutinis sluoksniu (supernatantas), kuriame yra sirolimas, tiriamas naudojant Elecsys Sirolimus tyrimą.

Konkurencijos principas. Bendra tyrimo trukmė: 18 minučių.

- 1-oji inkubacija: Inkubuojant mėginį (35 µL) su sirolimui specifišku biotininu antikūnu, susidaro imūninis kompleksas, kurio kiekis priklauso nuo analitės koncentracijos mėginyje.
- 2-oji inkubacija: pridėjus streptavidinu padengtų mikrodalelių ir sirolimo derivato, žymėto rutenio kompleksu<sup>9</sup>, užimamos vis dar laisvos biotininio žymėtojo antikūno sujungiančiosios sritys, susidarant antikūnohapteno kompleksui. Sąveikaujant biotinui ir streptavidinui visas kompleksas prijungiamas 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)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)

## Reagentai - darbiniai tirpalai

Ši reagentų stovo pakuotė yra pavadinta SRL.

- M Streptavidinu dengtos mikrodalelės (permatomas dangtelis), 1 buteliukas, 6.5 mL:  
Streptavidinu dengtos mikrodalelės, 0.72 mg/mL; konservantas.
- R1 Anti-sirolimo Ak-biotinas (pilkas dangtelis), 1 buteliukas, 9 mL:  
Biotinilinti monokloniniai antikūnai prieš sirolimą (triušio) 35 µg/L; fosfato buferis 100 mmol/L, pH 7.8; konservantas.
- R2 Sirolimo derivatas~Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup> (juodas dangtelis), 1 buteliukas, 9 mL:  
Sirolimo derivatas, pažymėtas rutenio kompleksu 18 µg/L; citrato buferis 10 mmol/L, pH 6.0; konservantas.

## Atsargumo priemonės ir įspėjimai

Skirta naudoti in vitro diagnostikai.

Laikykites 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 atliekamo automatinio maišymo metu.

Stabilumas:	
neatidarius, 2-8 °C temperatūroje	iki nurodytos galiojimo datos
atidarius, 2-8 °C temperatūroje	56 dienos
analizatoriuose	14 dienų naudojant analizatoriuje arba 56 dienos, kai laikoma šaldytuve ir analizatoriuje, ir bendras laikas naudojant analizatoriuje neviršija 10 x 8 valandų

### Mėginių surinkimas ir paruošimas

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

K<sub>2</sub>- ir K<sub>3</sub>-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.

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

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), laikykite mėgintuvėlių gamintojo instrukcijų.

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 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 06327982190, Sirolimus CalSet, skirtas 6 x 1.0 mL
- REF 05889081190, PreciControl ISD, 3 x 3.0 mL
- REF 11732277122, Diluent Universal, 2 x 16 mL mėginių skiediklis arba REF 03183971122, Diluent Universal, 2 x 36 mL mėginių skiediklis arba REF 05192943190, Diluent Universal 2, 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)
- Sūkurinis maišytuvas
- Sukamasis arba horizontalaus judesio maišytuvas
- MODULAR ANALYTICS E170 arba **cobas e** analizatorius

Priedai, skirti **cobas e** 411 analizatoriui:

- 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 skirtos 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 dėtuvių x 84 reakcijos indeliai ar pipetų antgaliams, atliekų maišeliai
- REF 03023150001, WasteLiner, atliekų maišeliai
- REF 03027651001, SysClean Adapter M, adapteris

Visų analizatorių priedai:

- REF 11298500316, ISE Cleaning Solution/Elecsys SysClean, 5 x 100 mL sistemos valymo tirpalas

### Rankinis mėginių paruošimas

Paruošdami kalibratorius, kontrolines medžiagas ir/ar mėginius, laikykite 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, laikykite žingsnių nuo 1 iki 7.

Žingsniai	Techninės pastabos
1. Leiskite visiems reagentams, kalibratoriams, kontrolinėms medžiagoms ir mėginams 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 perkeltkite 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.

Žingsniai	Techninės pastabos
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. Sukuriniui 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.
6. Centrifuguokite mėginį mažiausiai 4 minutes mikrocentrifugoje (≥ 10000 g)	Centrifuguoti mėginiai turėtų turėti aiškus 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 kambario temperatūroje. <b>Atkreipkite dėmesį:</b> <b>Dėl garavimo poveikio, paruošti mėginiai turėtų būti išanalizuoti/išmatuoti per 30 minučių po buteliukų atidarymo ir mėginių patalpavimo į sistemą. Venkite delsimo tarp patalpavimo ir matavimo, kad užtikrintumėte paruoštų mėginių 30 minučių stabilumą.</b> <b>Tai užtikrinama atliekant sirolimo tyrimus "batch" režimu:</b> <b>Remiantis vidutiniu sistemos mėginių tyrimo laiku, į vieną kalibruotą analizatoriaus matavimo kamerą vienu metu gali būti patalpunami ne daugiau nei 35 sirolimo mėginiai.</b>

### Tyrimas

Kad tyrimas būtų atliktas tinkamai, laikykitės šiame dokumente pateiktų analizatoriaus naudojimo instrukcijų. Specifines analizatoriaus 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 gravimetriškai pagamintus pagrindinius kalibratorius, susidedančius iš tiksliai apibrėžtų gryno sirolimo koncentracijų žmogaus viso kraujo terpėje.

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

**Sirolimus 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 daugikliai:  $\text{ng/mL} \times 1.0 = \mu\text{g/L}$

$\text{ng/mL} \times 1.0939 = \text{nmol/L}$

### 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  $\pm 0.60 \text{ ng/mL}$  (koncentracija  $\leq 3.0 \text{ ng/mL}$ ) arba  $\pm 20 \%$  (koncentracija  $> 3.0 \text{ ng/mL}$ ) pradinės reikšmės ribose.

### Endogeninės medžiagos:

Junginys	Tirta koncentracija
Albuminas	$\leq 7.0 \text{ g/dL}$
Bilirubinas	$\leq 1129 \mu\text{mol/L}$ arba $\leq 66.0 \text{ mg/dL}$
Biotinas	$\leq 287 \text{ nmol/L}$ arba $\leq 70.0 \text{ ng/mL}$
Cholesterolis	$\leq 500 \text{ mg/dL}$
HARA (žmogaus anti-triušio antikūnai)	$\leq 10.0 \mu\text{g/mL}$
Hematokritas	15-60 %
IgG	$\leq 7.0 \text{ g/dL}$
IgM	$\leq 1.0 \text{ g/dL}$
IgA	$\leq 1.6 \text{ g/dL}$
Intralipidai	$\leq 2000 \text{ mg/dL}$
Reumatoidinis faktorius	iki $1200 \text{ IU/mL}$
Šlapimo rūgštis	$\leq 30.0 \text{ mg/dL}$

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

#### Vaistiniai junginiai:

Buvo atlikti in vitro tyrimai su 16 dažniausiai naudojamų medikamentų. Poveikis tyrimui nebuvo nustatytas.

Kriterijus: Vertės suradimas  $\pm 0.60$  ng/mL (koncentracija  $\leq 3.0$  ng/mL) arba  $\pm 20\%$  (koncentracija  $> 3.0$  ng/mL) pradinės reikšmės ribose.

Papildomai buvo ištirti 25 specialūs vaistai.

Dėl kryžminio reaktyvumo su everolimu, vieno vaisto keitimas kitu gali nulemti didesnės tuo metu skiriamo imunosupresanto koncentracijos nustatymą kraujyje. Todėl negalima naudoti mėginių iš pacientų gydomų everolimu arba pereinančių nuo gydymo everolimu į gydymą sirolimu. Perėjimo periodą apytiksliai galima apskaičiuoti remiantis išskiriamu vaisto skilimo pusperiodžiu, pvz.: 12.5 % vaisto išlieka po 3 pusperiodžių.<sup>3</sup>

Vaistas	Tirta koncentracija
Acikloviras	3.2 µg/mL
Amfotericinas B	5.8 µg/mL
Ciprofloksacin	7.4 µg/mL
K <sub>2</sub> -EDTA	6 mg/mL
K <sub>3</sub> -EDTA	6 mg/mL
Eritromicinas	20 mg/dL
Flukonazolis	30 µg/mL
Flucitozinas	40 µg/mL
Gancikloviras	1000 µg/mL
Gentamicinas	12 mg/dL
Itrakonazolis	10 µg/mL
Kanamicinas	100 µg/mL
Ketokonazolis	50 µg/mL
Lidokainas	6 mg/dL
MPA (mikofenolio rūgštis) gliukurinidas	1800 µg/mL
Mikofenolinė rūgštis	500 µg/mL
Nitrofurantoinas	6 µg/mL
Fenobarbitalis	15 mg/dL
Spektinomocinas	100 µg/mL
Sulfometoksolis	200 µg/mL
Taktrolimas	60 ng/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

0.5-30 ng/mL (apibrėžiamos pagal aptikimo 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 > 30 ng/mL.

##### Matavimo reikšmių apatinės ribos

Tuščioji riba, nustatymo riba ir kiekybinio nustatymo riba

Tuščioji riba = 0.4 ng/mL

Nustatymo riba = 0.5 ng/mL

Kiekybinio nustatymo riba = 1.5 ng/mL su bendra leistina paklaida  $\leq 25\%$

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  $n \geq 60$  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  $\leq 25\%$ .

#### Skiedimas

Mėginiai, kurių sirolimo koncentracija yra virš matavimų ribos, prieš rankinio paruošimo procedūrą gali būti rankiniu būdu skiedžiami santykiu 1:2, naudojant Diluent Universal arba Diluent Universal 2. Atskiesto mėginio koncentracija turi būti > 12 ng/mL.

Po rankiniu būdu atliekamo skiedimo rezultatą padauginkite iš skiedimo koeficiento.

#### Tikėtinos reikšmės

Pastovių terapinių reikšmių sirolimo koncentracijai visame kraujyje nėra. Klinikinės būklės kompleksiskumas, individualus jautrumas imunosupresiniam ir nefrotoksiniam sirolimo poveikiui, kitų imunosupresantų vartojimas, transplantanto tipas, laikas po transplantacijos ir kiti veiksniai sąlygoja skirtingus reikalavimus optimaliai sirolimo koncentracijai kraujyje. Individualios sirolimo 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 klinike 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-A3): 2 kartus per dieną po du tyrimus, kiekvienas tiriamas 21 dieną ( $n = 84$ ). Buvo gauti šie rezultatai:

cobas e 411 analizatorius					
		Atkartojamumas		Tarpinis glaudumas	
Mėginys	Vidurkis ng/mL	SN ng/mL	CV %	SN ng/mL	CV %
ŽMM <sup>b)</sup> 1	1.19	0.123	10.3	0.130	10.9
ŽMM 2	3.96	0.145	3.7	0.167	4.2
ŽMM 3	13.2	0.314	2.4	0.436	3.3
ŽMM 4	23.3	0.955	4.1	0.959	4.1
ŽMM 5	29.6	0.716	2.4	0.838	2.8
PC ISD <sup>c)</sup> 1	2.81	0.149	5.3	0.173	6.2
PC ISD 2	9.57	0.265	2.8	0.347	3.6
PC ISD 3	17.3	0.432	2.5	0.494	2.9

b) ŽMM = žmogaus mėginių mišinys

c) PC ISD = PreciControl ISD

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	1.03	0.086	8.3	0.098	9.5
ŽMM 2	4.11	0.171	4.2	0.220	5.4
ŽMM 3	13.8	0.383	2.8	0.550	4.0
ŽMM 4	23.3	0.670	2.9	0.970	4.2
ŽMM 5	28.9	0.870	3.0	1.20	4.1
PC ISD 1	2.62	0.133	5.1	0.181	6.9
PC ISD 2	9.52	0.313	3.3	0.464	4.9
PC ISD 3	16.9	0.358	2.1	0.584	3.4

### Metodų palyginimas

a) Palyginus Elecsys Sirolimus tyrimą (y) su automatinio imunologinio tyrimu (x), naudojant klinikinius mėginius, gautos tokios koreliacijos:

Tirtų mėginių skaičius: 119

Passing/Bablok<sup>9</sup> Svartinė Deming regresija

$$y = 0.916x + 0.743$$

$$y = 0.992x + 0.319$$

$$r = 0.828$$

$$r = 0.967$$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 2.2 iki 20.5 ng/mL.

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

Tirtų mėginių skaičius: 120

Passing/Bablok<sup>9</sup> Svartinė Deming regresija

$$y = 1.03x + 0.625$$

$$y = 1.13x + 0.058$$

$$r = 0.832$$

$$r = 0.977$$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 1.1 iki 18.1 ng/mL.

### Analitinis specifiskumas

Metabolitas	Maksimali tirta koncentracija ng/mL	Maksimalus kryžminis reaktyvumas d)%
11-hidroksirolimas	25	2.9
12-hidroksirolimas	25	10.4
16-O-desmetilsirolimas	25	1.8
27-O-desmetilsirolimas	25	65.0
39-O-desmetilsirolimas	25	108.6

d) Reprezentaciniai duomenys; individualių laboratorijų duomenys gali skirtis nuo šių duomenų

### Nuorodos

- Sehgal SN. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. Transplant Proc 2003;35(Suppl 3A):7S-14S. Review.
- Halleck F, Duerr M, Waiser J, et al. An evaluation of sirolimus in renal transplantation. Expert Opin Drug Metab Toxicol 2012;8(10):1337-1356.
- Augustine JJ, Bodziak KA, Hricik DE. Use of sirolimus in solid organ transplantation. Drugs 2007;67(3):369-391.
- Wyeth Pharms INC. Rapamune Package Insert. Available at: [http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2010/021083s044s047,021083s044s0471bl.pdf](http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021083s044s047,021083s044s0471bl.pdf) [Last accessed 06-Jun-2014].
- Merkel S, Mogilevskaja N, Mengel M, et al. Side effects of sirolimus. Transplant Proc 2006;38:714-715.

- Aspeslet LJ, Yatscoff RW. Requirements for therapeutic drug monitoring of sirolimus, an immunosuppressive agent used in renal transplantation. Clin Ther 2000;22 Suppl B, B86-B92.
- Holt DW, Denny K, Lee TD, et al. Therapeutic monitoring of sirolimus: its contribution to optimal prescription. Transplant Proc 2003;35(Suppl 3A):157S-161S.
- Kahan BD, Napoli KL, Kelly PA, et al. Therapeutic drug monitoring of sirolimus: correlations with efficacy and toxicity. Clin Transplantation 2000;14:97-109.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures 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)

Papildymai, naikinimai ar pakeitimai yra pažymėti pakeitimų juosta paraštėje.

© 2015, Roche Diagnostics



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

