

REF		SYSTEM
06633188 190	100	MODULAR ANALYTICS E170 cobas e 411 cobas e 601 cobas e 602

Lietuvių

Paskirtis

Imunologinis kiekybinis in vitro tyrimas, skirtas everolimo koncentracijos nustatymui žmogaus visame kraujyje. Tyrimas yra naudojamas kaip pagalbinė priemonė gydant pacientus po širdies, kepenų ir inkstų transplantacijos, kurie gydomi everolimu.

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

Santrauka

Everolimas yra sirolimo derivatas, dažniausiai skiriamas geriamojo formoje, ir yra sintetinas prieš 40 pozicijoje esančio sirolimo anglies atomo prijungiant 2-hidroksietilo grupę.¹ Vaistas naudojamas įvairiais tikslais, dažniausiai organų transplantacijos, onkologijos ir kardiologijos srityse.² Nustatyta, kad ankstyvas kalcineurino inhibitorių, tokių kaip ciklosporinas, pakeitimas everolimu gali nulemti geresnės ilgalaikės inkstų transplantacijos recipientų išeitį.³

Everolimo imunosupresinis ir antiproliferacinis poveikis pasireiškia per jungimąsi su FKBP-12 ir tolesnį mTOR signalinių kelių slopinimą. Šis veikimo mechanizmas identiškas sirolimui. Everolimui būdingas toks pat in vivo aktyvumas kaip sirolimui.²

Prieš patekdamas į ląstelę everolimas jungiasi su FKBP-12 imunofilinu. Everolimo-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 stabiliu baltymu I (PHAS-I), šis kelias svarbesnis baltymų sintezėje. Jungdamasis su mTOR, everolimas 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, taip pat nuo CD28 priklausomus signalinius kelius.^{2,4,5}

Maksimali (C_{max}) everolimo koncentracija pasiekama per 1-2 valandų nuo vaisto suvartojimo.⁶ Kaip ir sirolimas, everolimas yra P-glikoproteino ir CYP3A4 substratas. Taigi metabolizmas virškinamajame trakte ir atgalinis patekimas į žarnų spindį gali reikšmingai paveikti galutinį biopraeinamumą.² Pirminis vaistas daugiausiai metabolizuojamas kepenyse ir žarnose demetilimo, hidroksilimo ir žiedinio skaidymo procesų metu, susidarant 6 pagrindiniams metabolitams.² Apytiksliai 75 % cirkuliuojančio everolimo yra susijungę su eritrocitais, o likusios dalies 75 % susijungę su plazmos baltymais.² Pacientų po inkstų transplantacijos skilimo pusperiodis yra 18-35 valandos, o tai sudaro maždaug pusę sirolimo pusperiodžio. Skilimo pusperiodis po kepenų transplantacijos yra šiek tiek ilgesnis ir siekia 35-40 valandas.²

Dažniausi nepageidaujami everolimo poveikiai naudojant jį imunosupresiniam gydymui yra periferinės edemos, vidurių užkietėjimai, hipertenzija, pykinimas, mažakraujystė, šlapimo takų infekcijos ir hiperlipidemija. Nepageidaujami poveikiai taip pat apima infekcijų riziką, limfomų atsiradimą, transplanto trombozę, uždelstą žaizdų gijimą, nefrotoksiškumą, oportunistines infekcijas ir naujai atsiradusį diabetą po transplantacijos.⁶

Everolimo koncentracija kraujyje pacientų po solidinių organų transplantacijos populiacijoje koreliuoja su terapiniu poveikiu ir nepageidaujamų poveikių dažniu.² Dėl siauro vaisto terapinio lango, reikšmingų farmakokinetinių vaistų sąveikų ir didelio variabilumo tarp pacientų, everolimo terapinė vaisto stebėsena (TVS) visame kraujyje yra rekomenduojama visiems pacientams po solidinių organų transplantacijos ir greičiausiai nulems geresnį vaisto poveikį.^{2,7,8,9}

Tyrimo principas

Rankinė precipitacija:

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

Reagentas lizuoja ląsteles, ekstrahuoja everolimą ir sudaro precipitatus su daugeliu kraujo baltymų. **Paruošti** mėginiai centrifuguojami ir susidaręs viršutinis sluoksnis (supernatantas), kuriame yra everolimas, tiriamas naudojant Elecsys Everolimus tyrimą.

Konkurencijos principas. Bendra tyrimo trukmė: 18 minučių.

- 1-oji inkubacija: Inkubuojant mėginį (35 µL) su everolimui specifiku biotinitu antikūnu, susidaro imuninis kompleksas, kurio kiekis priklauso nuo analizės koncentracijos mėginyje.
- 2-oji inkubacija: pridėjus streptavidinu padengtų mikrodalelių ir everolimo derivato, žymėto rutenio kompleksu^{a)}, užimamos vis dar laisvos biotinito 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)₃²⁺)

Reagentai - darbiniai tirpalai

Ši reagentų stovo pakuotė yra pavadinta EVL.

- M Streptavidinu dengtos mikrodalelės (permatomas dangtelis), 1 buteliukas, 6,5 mL:
Streptavidinu dengtos mikrodalelės, 0.72 mg/mL; konservantas.
- R1 Anti-everolimo Ak-biotinas (pilkas dangtelis), 1 buteliukas, 9 mL:
Biotinilinti monokloniniai antikūnai prieš everolimą (triušio) 35 µg/L; fosfato buferis 100 mmol/L, pH 7.8; konservantas.
- R2 Everolimo derivatas~Ru(bpy)₃²⁺ (juodas dangtelis), 1 buteliukas, 9 mL:
Everolimo 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 prašius.

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

Stabilumas:	
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.

K₂- 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.

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 kontrolinių, 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 pipetės 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] 06633196190, Everolimus CalSet, skirtas 6 x 1.0 mL
- [REF] 07294131190, PreciControl Everolimus, skirtas 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 (darbai 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 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 pipetės antgaliai
- 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 pipetės antgaliai, 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 mėginiams 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.

Žingsniai	Techninės pastabos
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 aiškias nuosėdas ir skaidrų paviršinį sluoksnį (supernatantą). Supernatantas neturėtų būti drumstas ar raudonos spalvos. Jeigu supernatantas yra raudonas, išmeskite jį ir pakeiskite naujai ekstrahuotu mėginiu.
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. Atkreipkite dėmesį: Dėl garavimo poveikio, paruošti mėginiai turėtų būti išanalizuoti/išmatuoti per 30 minučių po buteliukų atidarymo ir mėginių patalpinimo į sistemą. Venkite delsimo tarp patalpinimo ir matavimo, kad užtikrintumėte paruoštų mėginių 30 minučių stabilumą. Tai užtikrinama atliekant everolimo tyrimus "batch" režimu: Remiantis vidutiniu sistemos mėginių tyrimo laiku, į vieną kalibruotą analizatoriaus matavimo kamerą vienu metu gali būti patalpinami ne daugiau nei 35 everolimo 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 ženklo 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 everolimo koncentracijų žmogaus viso kraujo terpėje.

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

Everolimus 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 Everolimus.

PreciControl Everolimus 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 reikėtų imtis, reikšmėms nepatekus į nustatytas ribas.

Vadovaukitės nustatytais valstybiniais ir vietiniais reikalavimais kokybės kontrolei užtikrinti.

Skaiciavimas

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

Perskaiciavimo daugikliai: $\text{ng/mL} \times 1.0 = \mu\text{g/L}$
 $\text{ng/mL} \times 1.044 = \text{nmol/L}$

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 ± 0.60 ng/mL (koncentracija ≤ 3.0 ng/mL) arba $\pm 20\%$ (koncentracija > 3.0 ng/mL) pradinės reikšmės ribose.

Endogeninės medžiagos:

Junginys	Tirta koncentracija
Albuminas	≤ 7.0 g/dL
Bilirubinas	≤ 1129 µmol/L arba ≤ 66.0 mg/dL
Biotinas	≤ 287 nmol/L arba ≤ 70.0 ng/mL
Cholesterolis	≤ 500 mg/dL
HARA (žmogaus anti-triušio antikūnai)	≤ 10.0 µg/mL
Hematokritas	15-60 %
IgG	≤ 7.0 g/dL
IgM	≤ 1.0 g/dL
IgA	≤ 1.6 g/dL
Intralipidai	≤ 2000 mg/dL
Reumatoidinis faktorius	iki 1200 IU/mL
Šlapimo rūgštis	≤ 30.0 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 16 dažniausiai naudojamų medikamentų. Poveikis tyrimui nebuvo nustatytas.

Kriterijus: Vertės suradimas ± 0.60 ng/mL (koncentracija ≤ 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 sirolimu, vieno vaisto keitimas kitu gali nulemti didesnės tuo metu skiriamo imunosupresanto koncentracijos nustatymą kraujyje. Todėl negalima naudoti mėginių iš pacientų gydomų sirolimu arba pereinančių nuo gydymo sirolimu į gydymą everolimu. Perėjimo periodą apytiksliai galima apskaičiuoti remiantis išskiriamo vaisto skilimo pusperiodžiu, pvz.: 12.5 % vaisto išlieka po 3 pusperiodžių.⁶

Vaistas	Tirta koncentracija
Acikloviras	3.2 µg/mL
Amfotericinas B	5.8 µg/mL
Ciprofloksacinis	7.4 µg/mL
K ₂ -EDTA	6 mg/mL
K ₃ -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
Kanamocinas	100 µg/mL
Ketokonazolis	50 µg/mL
Lidokainas	6 mg/dL
MPA (mikofenolio rūgštis) gliukuronidas	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 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 > 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 = 1.0 ng/mL su bendra leistina paklaida ≤ 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 ≥ 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 ≤ 25 %.

Skiedimas

Mėginiai, kurių everolimo 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 everolimo koncentracijai visame kraujyje nėra. Klinikinės būklės kompleksiskumas, individualus jautrumas imunosupresiniam ir nefrotoksiniams everolimo poveikiui, kitų imunosupresantų vartojimas, transplantato tipas, laikas po transplantacijos ir kiti veiksniai sąlygoja skirtingus reikalavimus optimaliai everolimo koncentracijai kraujyje. Individualios everolimo 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-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 ^{b)} 1	1.66	0.134	8.1	0.135	8.1
ŽMM 2	3.19	0.091	2.8	0.135	4.2
ŽMM 3	13.2	0.367	2.8	0.486	3.7
ŽMM 4	16.6	0.532	3.2	0.679	4.1
ŽMM 5	24.1	0.634	2.6	0.946	3.9
PC EVL ^{c)} 1	2.69	0.077	2.9	0.140	5.2
PC EVL 2	9.27	0.187	2.0	0.248	2.7
PC EVL 3	19.8	0.499	2.5	0.746	3.8

b) ŽMM = žmogaus mėginių mišinys

c) PC EVL = PreciControl Everolimus

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	1.80	0.100	5.5	0.120	6.7
ŽMM 2	3.58	0.115	3.2	0.192	5.4
ŽMM 3	13.6	0.354	2.6	0.622	4.6
ŽMM 4	18.4	0.619	3.4	0.769	4.2

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 5	26.8	0.818	3.1	1.09	4.1
PC EVL 1	2.79	0.116	4.2	0.176	6.3
PC EVL 2	9.91	0.379	3.8	0.508	5.1
PC EVL 3	20.6	0.528	2.6	0.797	3.9

Metodų palyginimas

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

Tirtų mėginių skaičius: 151

Passing/Bablok¹⁰ Svertinė Deming regresija
 $y = 0.939x + 1.69$ $y = 1.05x + 1.03$
 $r = 0.753$ $r = 0.910$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 1.0 iki 19.6 ng/mL.

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

Tirtų mėginių skaičius: 184

Passing/Bablok¹⁰ Svertinė Deming regresija
 $y = 1.13x + 0.905$ $y = 1.20x + 0.580$
 $r = 0.840$ $r = 0.947$

Mėginių koncentracijų reikšmės buvo apytiksliai nuo 1.5 iki 20.2 ng/mL.

Analitinis specifiškumas

Metabolitas	Maksimali tirta koncentracija ng/mL	Maksimalus kryžminis reaktyvumas ^{d)} %
24-hidroksieverolimas	25	21.3
25-hidroksieverolimas	25	15.4
45/46-hidroksieverolimas	25	6.0
PKF 226-320 (RAD SA)	25	9.8
PKF 299-255 (RAD PSA)	25	10.1
RAD-PC	25	109.3

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

Nuorodos

- Sedrani R, Cottens S, Kallen J, et al. Chemical modification of rapamycin: the discovery of SDZ RAD. *Transplant Proc* 1998;30:2192-2194.
- Gabardi S, Baroletti SA. Everolimus: a proliferation signal inhibitor with clinical applications in organ transplantation, oncology, and cardiology. *Pharmacotherapy* 2010;30(10):1044-1056.
- Budde K, Becker T, Arms W, et al. ZEUS Study Investigators. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet* 2011;377(9768):837-847. Erratum in: *Lancet*. 2012;380(9858):1994.
- Augustine JJ, Bodziak KA, Hricik DE. Use of sirolimus in solid organ transplantation. *Drugs* 2007;67(3):369-391.
- Sehgal SN. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. *Transplant Proc* 2003;35(Suppl 3A):7S-14S. Review.
- Novartis. Zortress Package Insert. Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021560s000lbl.pdf [Last accessed 18-Jun-2014].

- Kahan BD, Keown P, Levy GA, et al. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther* 2002;24(3):330-350.
- Holt DW. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs in kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11(6):657-663.
- Lorber MI, Ponticelli C, Whelchel J, et al. Therapeutic drug monitoring for everolimus in kidney transplantation using 12-month exposure, efficacy, and safety data. *Clin Transplant* 2005;19:145-152.
- 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

