

MAGLUMI[®] Набір реагентів для визначення такролімусу (FK506)

ПРИЗНАЧЕННЯ

Набір використовується для кількісного визначення вмісту FK 506 *in vitro* в цільній крові людини методом імунохемілюмінесцентного аналізу за допомогою повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI (зокрема, Maglumi 600, Maglumi 800, Maglumi 1000, Maglumi 1000 Plus, Maglumi 2000, Maglumi 2000 Plus, Maglumi 4000, Maglumi 4000 Plus і MAGLUMI X8).

СТИСЛИЙ ОПИС І ПРИНЦИП ДІЇ ТЕСТУ

Такролімус (також FK 506 або фуджиміцин, торгова назва Програф, Адваграф, Протопик) – це імуносупресивний препарат, що переважно застосовується для зниження ризику відторгнення органа після аlogenної трансплантації. Такролімус (FK 506) випускається як засіб для пригнічення імунної системи з метою запобігання або лікування реакції відторгнення трансплантата в пацієнтів після пересадки органів або для лікування аутоімунних захворювань, зокрема важкої міастенії, артриту й atopічного дерматиту¹. Доступні лікарські форми: ін'єкції, капсули або мазі для безперервної внутрішньовенної інфузії, перорального або місцевого застосування відповідно. Такролімус – це 23-членний макролідний антибіотик (молекулярна маса в негідратованій формі: 806), ізольований із культури мікроорганізмів *Streptomyces tsukubaensis*, яких характеризується високою ліпофільністю й нерозчинністю у воді. Через ці фізико-хімічні властивості такролімусу його пероральна абсорбція та інтенсивність метаболічного кліренсу з організму може значно різнитися^{1,2}. Такролімус належить до групи інгібіторів кальциневрину. Активація T-клітинних рецепторів у T-лімфоцитах зазвичай призводить до підвищення концентрації внутрішньоклітинного кальцію, який, поєднуючись із кальмодуліном, активує кальциневрин. Після цього кальциневрин дефосфорилує фактор транскрипції ядерного фактора активованих T-лімфоцитів (NF-AT), який переміщується в ядро T-клітини, підвищуючи активність генів, які кодують IL-2 і споріднені цитокіни. Такролімус блокує дефосфоріляцію NF-AT³. Протягом останніх років цей препарат застосовують для зменшення запалення, пов'язаного з виразковим колітом (ВК) – формою запального захворювання кишечника. Він, попри майже виключне використання в клінічних випробуваннях, демонструє високу ефективність у лікуванні загострень ВК^{4,5}. Такролімус у формі мазі застосовується для зовнішньої терапії екземи, зокрема atopічного дерматиту. За механізмом дії він схожий на стероїди, його ефективність не поступається ефективності стероїдів середнього рівня активності⁶. Застосування такролімусу може супроводжуватися важкими побічними ефектами, зокрема інфекцією, порушеннями функції серця, гіпертонією, нечіткістю зору, проблемами в роботі печінки й нирок (нефротоксичність такролімусу), гіперкаліємією, гіпомангіємією, гіперглікемією, цукровим діабетом, свербіжем, порушеннями функції легень (сиролімус також може викликати порушення в роботі легень) і різними психоневрологічними розладами, як-от утратаю апетиту, безсонням, синдромом зворотної задньої енцефалопатії, сплутаністю свідомості, слабкістю, депресією, нічними кошмарами, спазмами, невропатією, судомами, тремором і кататонією⁷⁻⁹. Щоб підтримувати концентрацію цього препарату в крові на рівні, який буде достатнім для запобігання відторгненню трансплантату й водночас даватиме змогу мінімізувати токсичні побічні ефекти, як-от діабет, невропатія й нефротоксичність, потрібно обов'язково здійснювати терапевтичний лікарський моніторинг¹⁰.

ПРИНЦИП ДІЇ ТЕСТУ

В основі тесту FK 506 лежить конкурентний імунохемілюмінесцентний аналіз. Зразок (або калібратор / контрольний зразок, якщо застосовно), буферна речовина, магнітні мікросфери, укріті моноклональним антитілом до анти-FK 506, ретельно перемішуються й перебувають у інкубується. Потім додається очищений антиген FK 506 із міткою ABE1 для утворення комплексів антитіло – антиген. Після осадження в магнітному полі зливається супернатант і виконується цикл відмивання. Після цього додаються стартери 1 і 2 для запуску реакції хемілюмінесценції. Інтенсивність світлового сигналу вимірюється фотоелектронним помножувачем у відносних світлових одиницях (BCO) і є зворотно пропорційною до концентрації FK 506 у досліджуваному зразку (або в калібраторі / контрольному зразку, якщо застосовно).

СКЛАД НАБОРУ

Надані матеріали

Компоненти	Вміст	100 тестів (REF:130207003M)	50 тестів (REF:130607003M)
Магнітні мікросфери	Магнітні сфери, укріті моноклональним антитілом до анти-FK 506, містять бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Калібратор низького рівня	Антиген FK 506, містить бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Калібратор високого рівня	Антиген FK 506, містить бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,5 мл (mL)	2,0 мл (mL)
Замісний реагент	Дезоксихолат натрію 0,25 %.	5,5 мл (mL)	3,0 мл (mL)
Буфер	Містить бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (< 0,1 %).	6,5 мл (mL)	4,0 мл (mL)
Мітка ABE1	Очищений антиген FK 506 із міткою ABE1, містить бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (< 0,1 %).	6,5 мл (mL)	4,0 мл (mL)
Реагент для попередньої обробки цільної крові	Лаурилсульфонат натрію, NaN ₃ (< 0,1 %).	12,5 мл (mL)	12,5 мл (mL)
Внутрішній контроль якості	Антиген FK 506, містить бичачий сироватковий альбумін, NaN ₃ (< 0,1 %).	2,0 мл (mL)	2,0 мл (mL)

Усі реагенти надаються в готовому до використання стані.

Необхідні аксесуари, які не входять до комплекту постачання

Серія MAGLUMI:

Реакційні модулі (пробірки)	REF: 630003
Стартовий реагент 1+2	REF: 130299004M, 130299027M
Концентрат для промивання	REF: 130299005M
Оптичний контроль	REF: 130299006M
Реакційна колба	REF: 130105000101

Акcesуари можна замовити в компанії Shenzhen New Industries Biomedical Engineering Co., Ltd. (SNIBE) або її вповноважених представників.

КАЛІБРУВАННЯ

Відстеження: цей метод було стандартизовано шляхом порівняння з речовиною, що використовується компанією SNIBE для внутрішнього контролю якості.

Застосування спеціально призначених калібраторів дає змогу адаптувати значення відносних світлових одиниць (BCO) до відповідної референсної кривої. Результати визначаються за калібральною кривою, яка будується залежно від використовуваного інструмента на підставі калібрування за двома точками й референсної кривої (за 10 калібруваннями), що надається на чипі радіочастотної ідентифікації реагенту.

Повторне калібрування потрібно виконати в таких випадках:

- після кожної заміни партії (реагенту або стартера 1 і 2);
- щотижня й / або перед початком використання нового набору реагентів (рекомендовано);
- після технічного обслуговування інструмента;
- якщо показники контрольних зразків виходять за межі норми;

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Необхідно дотримуватись урядових нормативів або сертифікаційних вимог щодо інтервалів контролю якості.

Внутрішній контроль якості застосовується лише до систем MAGLUMI. Інструкції з використання й цільові показники наведено в розділі **Контроль якості для FK 506 (ИХЛА)**. Оцінка результатів має здійснюватися виходячи з власних стандартів і досвіду користувача.

Докладну інформацію щодо введення значень для контролю якості можна знайти в інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

Для моніторингу ефективності системи й графіків змін потрібні матеріали для контролю якості серійного виробництва. З контрольними зразками слід поводитися так само, як і зі зразками пацієнта. Рівень ефективності вважається задовільним, якщо значення аналізованих компонентів не виходять за межі допустимого діапазону регулювання, визначеного для системи, або користувацького діапазону, відповідно до схеми контролю якості, складеної у внутрішній лабораторії. Якщо контроль якості показав, що результати виходять за межі норми або встановленого лабораторією діапазону, такі значення не слід заносити до звітів. У такому випадку слід:

- перевірити, чи не сплив термін придатності матеріалів;
- переконатися, що було проведено планове технічне обслуговування;
- упевнитися, що було дотримано інструкцій із використання під час виконання тестів;
- виконати тест повторно, використовуючи свіжі контрольні зразки;
- за потреби звернутися по допомогу до місцевої служби технічної підтримки або дистриб'юторів.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

- Зразок: цільна кров. Кров потрібно збирати асептичним методом, з дотриманням загальноприйнятих застережень щодо венепункції.
- У пробірку з EDTA збирають 5 мл (mL) венозної крові. Додають 100 мкл (µL) реагенту для попередньої обробки цільної крові, перемішують і відправляють у змішувач на 2 хвилини. (Якщо об'єм узятого зразка венозної крові становить 2 мл (mL), дотримуючись пропорції, додайте в пробірку 40 мкл (µL) реагенту для попередньої обробки цільної крові).
- Для аналізу не мають використовуватися гемолізовані або високоліпімічні зразки, як і зразки, що містять тверді домішки або мають явні ознаки мікробного забруднення. Усі зразки потрібно перевіряти на наявність бульбашок повітря; для забезпечення оптимального результату бульбашки потрібно видалити перед початком аналізу.
- Усі зразки (узяті в пацієнта й контрольні) мають бути проаналізовані протягом 3 годин після завантаження в систему MAGLUMI. З усіма питаннями щодо умов збереження зразків у системі можна звертатися до інформаційної служби компанії SNIBE.
- Зразок цільної крові зберігає стабільність при температурі 2–8 °C протягом щонайбільше 3 днів.
- **Не заморожувати.**
- Перш ніж перемішувати зразки цільної крові в аналізатор, її потрібно ретельно перемішати до гомогенного стану.
- Зразки, призначені для перевезення, мають бути упаковані й містити маркування відповідно до застосованих вимог державного, федерального й міжнародного законодавства щодо транспортування клінічних зразків та інфекційних речовин.
- Об'єм зразка, потрібний для одноразового визначення рівня FK 506, становить 40 мкл (µL).

ПОПЕРЕДЖЕННЯ Й ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ДЛЯ КОРИСТУВАЧІВ

IVD

- Призначено для діагностики *in vitro*.
- Дотримуйтеся вказівок на вкладиші з інструкцією з використання. Інакше достовірність результатів тесту не гарантується.

Застереження щодо безпеки

- **УВАГА.** Цей виріб передбачає обробку біологічних матеріалів людини. Усі людські біологічні матеріали слід вважати потенційно інфікованими й поводитися з ними відповідно до вимог стандарту 29 CFR 1910.1030 «Професійні ризики, пов'язані з патогенами, що передаються з кров'ю». Під час роботи з матеріалами, що містять або можуть містити інфіковані речовини, слід застосовувати 2-й рівень біологічного захисту або інші відповідні методики біологічної безпеки.
- Усі зразки, біологічні реагенти й матеріали, що використовуються під час проведення тестів, мають вважатися такими, що ймовірно можуть переносити інфекції. Зважаючи на це, утилізувати їх потрібно з дотриманням прийнятих у вашому закладі правил. Утилізацію матеріалів слід здійснювати в безпечний і прийнятний спосіб відповідно до нормативних вимог, виконання яких є пріоритетнішим.
- Цей виріб містить азид натрію. Вміст і контейнери мають бути утилізовані відповідно до вимог місцевих, регіональних і державних нормативів.
- Докладні відомості наведено в паспорті безпечності речовини, що надається на вимогу.

Застереження щодо роботи із системою

- Не використовуйте набір реагентів після закінчення терміну його придатності.
- Не використовуйте компоненти з різних партій або від різних реагентів одночасно.
- Перед першим завантаженням у систему набір реагентів потрібно перемішати, щоб повернути магнітні мікросфери, які осіли під час транспортування, до стану суспензії.
- Інструкції щодо перемішування магнітних мікросфер наведено в розділі цього вкладиша, присвяченому підготовці реагентів.
- Щоб запобігти забрудненню, потрібно вдягати чисті рукавички під час роботи з набором реагентів і зразками.

- З часом на прокладці можуть накопичуватися висохлі залишки рідин. Сольовий осад, що утворюється внаслідок цього, не впливає на результат аналізу.
- З усіма питаннями щодо умов роботи із системою можна звертатися до інформаційної служби компанії SNIBE.

ЗБЕРІГАННЯ Й СТАБІЛЬНІСТЬ

- У герметичній упаковці: зберігати при температурі 2–8 °С до кінця терміну придатності.
- У відкритому стані при 2–8 °С: мінімальний термін стабільності – 4 тижні.
- У середині системи: мінімальний термін стабільності – 4 тижні.
- Для забезпечення максимально ефективного використання набору рекомендовано ставити відкриті набори в холодильник після завершення всіх аналізів протягом дня. Якщо контрольні зразки перебувають у межах норми, можна продовжувати користуватися набором навіть після закінчення терміну зберігання у відкритому стані або в системі.
- Зберігайте набір у вертикальному положенні, щоб у майбутньому полегшити повернення магнітних мікросфер до стану суспензії.
- Бережіть від прямих сонячних променів.

ПОРЯДОК ПРОВЕДЕННЯ ТЕСТУ

Підготовка реагентів

- Ресуспензування магнітних мікросфер відбувається автоматично після завантаження набору, чим забезпечується повне рівномірне відновлення суспензії перед використанням.
- Для отримання максимально ефективних результатів потрібно точно дотримуватись інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI. Кожний параметр тестування визначається за допомогою чипа радіочастотної ідентифікації на наборі реагентів. Докладну інформацію наведено в інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

ОБМЕЖЕННЯ

- Запорукою отримання достовірних результатів є досконале володіння операціями аналізу й чітке дотримання всіх інструкцій. Для отримання дійсних результатів необхідно точно дотримуватись інструкцій з процедури та ретельно виконувати всі операції. Будь-які відхилення від процедури можуть призвести до хибних результатів.
- Для аналізів із застосуванням антитіл можливий вплив з боку гетерофільних антитіл у зразку пацієнта. У пацієнтів, які регулярно контактували з тваринами або отримували імунотерапію, можуть бути антимишачі антитіла (НАМА), наслідком чого можуть бути хибно підвищені або знижені значення. Крім того, у зразках пацієнтів можуть бути присутні також інші гетерофільні антитіла, наприклад, антикозячі антитіла людини.
- Результати аналізів слід розглядати в контексті інших клінічних та лабораторних даних як допомогу в прийнятті рішень щодо кожного окремого пацієнта.

РЕЗУЛЬТАТИ

Розрахунок результатів

Аналізатор автоматично розраховує концентрацію FK 506 у кожному зразку на основі калібрувальної кривої, яка будується за методом двоточкового калібрування референсної кривої. Одиницею вимірювання є нг/мл (ng/mL). Докладну інформацію наведено в інструкції з використання повністю автоматичного хемілюмінесцентного імуноаналізатора серії MAGLUMI.

Інтерпретація результатів

За результатами досліджень, проведених у групі з 124 пацієнтів у клінічних центрах, концентрація становила 3,0–39,4 нг/мл (ng/mL). Проте для концентрації такролімусу в цільній крові не існує визначеного терапевтичного діапазону. Різні вимоги до рівня такролімусу в крові зумовлюються ступенем тяжкості клінічного стану, індивідуальними відмінностями рівня чутливості до імуносупресивної та нефротоксичної активності препарату, одночасним введенням інших імуносупресантів, типом трансплантації, часом після операції та низкою інших факторів. Для прийняття клінічних рішень, оптимальних для кожного окремого пацієнта, результати аналізів слід розглядати в поєднанні з іншими клінічними й лабораторними даними.

Можливі розбіжності в результатах різних лабораторій, що пояснюються відмінностями в складі популяції й методиках дослідження. За потреби кожна лабораторія має визначити власний діапазон нормальних значень.

ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Точність

Точність тестів FK 506 визначалася відповідно до вимог документа EP5-A2, виданого Інститутом клінічних і лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI). У двох окремих паралельних випробуваннях протягом 20 днів досліджувалися 2 контрольні зразки з різною концентрацією аналізованих компонентів. Результати представлено в наведеній нижче таблиці:

Зразок	Середнє (нг/мл) (ng/mL) (N = 80)	У межах випробування		Між випробуваннями		Загалом	
		Станд. відх. (нг/мл) (ng/mL)	% коеф. вар.	Станд. відх. (нг/мл) (ng/mL)	% коеф. вар.	Станд. відх. (нг/мл) (ng/mL)	% коеф. вар.
Контроль 1	20,324	0,854	4,20	0,442	2,17	0,962	4,73
Контроль 2	50,150	1,380	2,75	0,373	0,74	1,430	2,85

Межа холостої проби

Межа холостої проби для тестів FK 506 становить 0,1 нг/мл (ng/mL).

Межа виявлення

Межа виявлення для тестів FK 506 становить 0,15 нг/мл (ng/mL).

Діапазон вимірювання

0,1–100 нг/мл (ng/mL) (визначається межею холостої проби й максимумом референсної кривої). Значення, нижчі за межу холостої проби, позначаються у звітах як < 0,1 нг/мл (ng/mL). Значення, що виходять за верхню межу діапазону вимірювання, позначаються як > 100 нг/мл (ng/mL).

Порівняння методик

100 зразків із різним вмістом FK 506 – від 0,59 до 38,74 нг/мл (ng/mL) – було досліджено за допомогою тесту FK 506 (y) й іншої імунологічної проби серійного виробництва (x). Дані щодо лінійної регресії підсумовано таким чином: $y = 0,985x + 0,061$, $r^2 = 0,988$.

Аналітична специфічність

Специфічність аналізу визначалася шляхом додавання AM1 (M17) (500 нг/мл (ng/mL)), AMIC (M18) (250 нг/мл (ng/mL)), AM9 (M1) (250 нг/мл (ng/mL)), AM19 (M8) (250 нг/мл (ng/mL)) і AM4N (M21) (250 нг/мл (ng/mL)) до зразків цільної крові з указаною концентрацією. Факту спотворення результатів не виявлено.

Вплив ендогенних факторів

Речовини, концентрація яких не перевищує вказані нижче значення, не впливають на результат аналізу:

- Білірубін 30 мг/дл (mg/dL)
- Тригліцерид 500 мг/дл (mg/dL)
- Загальний білок 12 г/дл (g/dL)

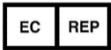
ПОСИЛАННЯ

1. Wallemacq P E, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects [J]. Clinical chemistry, 1993, 39(11): 2219-2228.
2. Iwasaki K. Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics [J]. Drug metabolism and pharmacokinetics, 2007, 22(5): 328-335.
3. Ganong W F, Ganong W. Review of medical physiology [M]. Norwalk, CT: Appleton & Lange, 1995.
4. Baumgart DC, Pintoffl JP, Sturm A, Wiedenmann B, Dignass AU (2006). "Tacrolimus is safe and effective in patients with severe steroid-refractory or steroid-dependent inflammatory bowel disease—a long-term follow-up". Am J Gastroenterol. 101 (5): 1048–1056.
5. Baumgart DC, Macdonald JK, Feagan B (2008). Baumgart DC, ed. "Tacrolimus (FK506) for induction of remission in refractory ulcerative colitis". Cochrane Database Syst Rev. 16 (3): CD007216.
6. Kang S, Lucky A W, Pariser D, et al. Long-term safety and efficacy of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in children[J]. Journal of the American Academy of Dermatology, 2001, 44(1): S58-S64.
7. Naesens M, Kuypers DR, Sarwal M (2009). "Calcineurin inhibitor nephrotoxicity". Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 4 (2): 481–509.
8. Miwa Y, Isozaki T, Wakabayashi K, et al. (2008). "Tacrolimus-induced lung injury in a rheumatoid arthritis patient with interstitial pneumonitis". Mod Rheumatol. 18 (2): 208–11.
9. O'Donnell MM, Williams JP, Weinrieb R, Denysenko L (2007). "Catatonic mutism after liver transplant rapidly reversed with lorazepam". Gen Hosp Psychiatry. 29 (3): 280–1.
10. Wallemacq P, Reding R. FK506 (Tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical and analytical aspects. Clin Chem. 1993; 39:2219–2228.



Шеньчжень Нью Індастріз Біомедікал Інжинірінг Ко., Лтд.

№23 Дзінксіу Еаст Роад, Піншан Дістрікт, 518122 Шеньчжень, Китайська Народна Республіка
Тел: +86 755 21536601 Факс: +86 755 28292740



Shanghai International Holding Corp. GmbH (Europe)

Eiffestrasse 80, 20537 Hamburg, Germany
Тел.: +49-40-2513175 Факс: +49-40-255726



Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «Кратія Медтехніка», вул. Багговутівська, 17-21, 04107, м. Київ, Україна.
Тел.: 0 800 21-52-32 (безоплатно можуть телефонувати абоненти фіксованого та мобільного телефонного зв'язку з будь-якої точки України).
Електронна пошта: uarep@cratia.ua

ПОЯСНЕННЯ СИМВОЛІВ

	Див. інструкцію з використання		Виробник
	Температурний діапазон (зберігати при температурі 2–8 °C)		Кінцева дата терміну придатності
	Вмісту достатньо для <n> тестів		Бережіть від прямих сонячних променів
	Цим боком догори		Уповноважений представник в Європейському союзі
	Медичний виріб для діагностики in vitro		Склад набору
	Номер за каталогом		Код партії
	Знак відповідності технічним регламентам		

Дата останнього перегляду інструкції із застосування: червень 2020 року.