

Digitoxin

Digitoxina

03002659 122

100 testes

cobas

Português

Função

Imunoensaio para a determinação quantitativa in vitro da digitoxina em soro e plasma humanos. A medição é utilizada para identificação e tratamento da intoxicação por digitoxina e para a monitorização dos níveis de digitoxina de forma a auxiliar numa terapêutica.

O imunoensaio de electroquimioluminescência (electrochemiluminescence immunoassay ou "ECLIA") foi concebido para ser utilizado nos analisadores de imunoensaios Elecsys 1010/2010 e MODULAR ANALYTICS E170 (Módulo Elecsys) da Roche.

Características^{1,2,3,4,5,6,7}

A digitoxina pertence à família dos fármacos glicosidos cardiotónicos. O seu mecanismo exacto de acção ainda não é conhecido na íntegra. Uma dose de digitoxina eventualmente aumenta a concentração intracelular de Ca^{2+} , que é extremamente importante para a função muscular cardíaca. Como resultado, a capacidade de contracção do coração, bem como a amplitude da contracção, aumentam, o que resulta numa maior quantidade de sangue a ser transportado a cada batida do coração.

A digitoxina é utilizada para tratar a insuficiência cardíaca. É também indicada no tratamento da hipertensão arterial considerável em pacientes idosos, nos preparativos pré-operatórios de pacientes hipertensos com insuficiência coronária e para o tratamento de pacientes com angina de peito e dilatação cardíaca e com tendência para uma pressão ventricular diastólica aumentada. A digitoxina é contra-indicada em pacientes com arritmia ventricular grave e algumas formas de pericardite.

O intervalo terapêutico da digitoxina é aprox. de 13-39 nmol/l (10-30 ng/ml).³

Neste caso, a digitoxina apresenta fixação proteica muito superior à da digoxina. Uma vez que o efeito da digitalis depende de um número de factores, os intervalos de concentração terapêuticos e tóxicos podem sobrepor-se.² Os valores séricos devem, portanto, ser interpretados apenas no contexto de todo o quadro clínico.

A semi-vida de eliminação da digitoxina é de 6 a 8 dias. É sobretudo metabolizada no fígado. Neste processo, dá-se a produção de digoxina em cerca de 10% da dose de digitoxina administrada. Aprox. 30% da digitoxina administrada é eliminada por via renal.

A determinação da concentração sérica é indicada, por ex., na monitorização terapêutica, na monitorização do regime posológico de um paciente, na confirmação de uma suspeita de intoxicação, em pacientes com farmacocinética alterada ou pré-medicação desconhecida, e em pacientes nos quais um efeito da digitalis não foi detectado num ECG (electrocardiograma).

Princípio do teste

Princípio de competição. Duração total do ensaio: 18 minutos.

- 1ª incubação: Através da incubação da amostra (15 µl) com um anticorpo biotilado específico de digitoxina, forma-se um imunocomplexo, cuja quantidade depende da concentração de analito na amostra.
- 2ª incubação: Após a incorporação das micropartículas revestidas de estreptavidina e de digitoxina marcada com um complexo de ruténio^a, os locais ainda livres dos anticorpos biotilados são ocupados, com a formação de um complexo anticorpo - hapteno. O complexo formado liga-se à fase sólida pela interacção da biotina e da estreptavidina.
- A mistura de reacção é aspirada para a célula de leitura, onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eléctrodo. Os elementos não ligados são então removidos com ProCell. A aplicação de uma corrente eléctrica ao eléctrodo induz uma emissão quimioluminescente que é medida por um fotomultiplicador.
- Os resultados são determinados com base numa curva de calibração, que é gerada especificamente pelo analisador por uma calibração de 2 pontos, e uma curva principal incluída no código de barras do reagente.

a) $Tris(2,2\text{-bipyridyl})ruthenium(II)\text{-complex } (Ru(bpy)_3^{2+})$

Reagentes - soluções de trabalho

Dispositivo de reagentes Elecsys Digitoxin, Ref. 03002659 - 100 testes

- M Micropartículas revestidas de estreptavidina (tampa transparente), 1 frasco, 6,5 ml;
Micropartículas revestidas de estreptavidina, 0,72 mg/ml; capacidade de ligação: 470 ng biotina/mg micropartículas; conservante.

- R1 Anticorpo anti-digitoxina~biotina (tampa cinzenta), 1 frasco, 9 ml;
Anticorpo policlonal biotilado anti-digitoxina (carneiro) 0,5 mg/l;
tampão fosfato 100 mmol/l, pH 6,8; conservante.
- R2 Digitoxina~ $Ru(bpy)_3^{2+}$ (tampa preta), 1 frasco, 9 ml;
Digitoxina marcada com um complexo de ruténio 4,0 µg/l; tampão fosfato 100 mmol/l, pH 6,8; conservante.

Precauções e advertências

Para utilização em diagnóstico in vitro.

Respeite as precauções normais de manuseamento de reagentes laboratoriais. Elimine todos os resíduos de acordo com os regulamentos locais.

Ficha de segurança fornecida a pedido, para uso profissional.

Evite a formação de espuma com todos os reagentes e com todo o tipo de amostras (amostras de pacientes, calibradores e controlos).

Preparação dos reagentes

Os reagentes do dispositivo foram incluídos numa unidade pronta a ser utilizada que não pode ser separada.

Toda a informação necessária ao correcto funcionamento é introduzida no analisador através dos respectivos códigos de barras do reagente.

Conservação e estabilidade

Conservar a 2-8°C.

Conservar o dispositivo de reagentes Elecsys Digitoxin **na vertical** para assegurar a total disponibilidade das micropartículas durante a mistura automática, antes da utilização.

Estabilidade:

em frasco fechado a 2-8°C:	até ao fim do prazo de validade indicado
após abertura a 2-8°C:	12 semanas
no analisador	4 semanas
MODULAR ANALYTICS E170:	
no analisador Elecsys 2010:	4 semanas
no analisador Elecsys 1010:	4 semanas (guardado alternadamente no frigorífico e no analisador - temperatura ambiente 20-25°C; até 20 horas no total quando aberto)

Colheita e preparação das amostras

As amostras para análise da digitoxina deverão ser, de preferência, colhidas no máximo 8-24 horas após a administração do fármaco.¹

Apenas as amostras indicadas em seguida foram testadas e consideradas aceitáveis.

O soro é colhido utilizando tubos de amostra padrão. Alguns tubos com gel de separação podem não ser adequados para realizar ensaios de monitorização de drogas terapêuticas; consulte por favor as informações do fabricante dos tubos.

Plasma tratado com heparina (lítio, sódio e amónio), EDTA-K₃ e citrato de sódio. Critério: Recuperação dentro de 90-110% do valor sérico ou declive 0,9-1,1 + intercepção dentro de $< \pm 2 \times$ sensibilidade analítica + coeficiente de correlação $> 0,95$.

Estabilidade: 1 semana a 2-8°C, 6 meses a -20°C.^{5,6} Congelar apenas uma vez.

Os diferentes tipos de amostras incluídos na lista foram testados com base numa selecção de tubos de colheita de amostras comercialmente disponíveis na altura em que o teste foi realizado, i.e. nem todos os tubos dos diferentes fabricantes disponíveis no mercado foram testados. Os sistemas de colheita de amostras de diferentes fabricantes podem, por sua vez, conter materiais diferentes que, em alguns casos, podem afectar os resultados dos testes. Ao utilizar amostras em tubos primários (sistemas de colheita de amostras), consulte as instruções do fabricante dos tubos.

As amostras que contêm precipitado têm de ser centrifugadas antes da realização do ensaio. Não utilize amostras inactivadas por calor. Não utilize amostras e controlos estabilizados com azida.

Antes da determinação, certifique-se de que as amostras dos pacientes, os calibradores e os controlos estão à temperatura ambiente (20-25°C).

Devido a possíveis efeitos de evaporação, as amostras, os calibradores e os controlos colocados no analisador deverão ser analisados no prazo de duas horas.

Materiais fornecidos

Consulte a secção "Reagentes - soluções de trabalho".



Materiais necessários (mas não fornecidos)

- Ref. 03002667, Elecsys Digitoxin CalSet, para 4 x 1 ml
- Ref. 03530477, Elecsys PreciControl Cardiac, para 2 x 2 ml cada de PreciControl Cardiac 1 e 2 ou Ref. 11731416, Elecsys PreciControl Universal, para 2 x 3 ml cada de PreciControl Universal 1 e 2
- Ref. 11732277, Elecsys Diluent Universal, 2 x 18 ml de diluente de amostras ou Ref. 03183971, Elecsys Diluent Universal, 2 x 40 ml de diluente de amostras
- Equipamento normal de laboratório
- Analisadores Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Acessórios para os analisadores Elecsys 1010 e 2010:

- Ref. 11662988, Elecsys ProCell, 6 x 380 ml de tampão do sistema
- Ref. 11662970, Elecsys CleanCell, 6 x 380 ml de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 11930346, Elecsys SysWash, 1 x 500 ml de aditivo para água de lavagem
- Ref. 11933159, Adaptador para SysClean
- Ref. 11706829, Elecsys 1010 AssayCup, 12 x 32 cuvetes de reacção ou Ref. 11706802, Elecsys 2010 AssayCup, 60 x 60 de cuvetes de reacção
- Ref. 11706799, Elecsys 2010 AssayTip, 30 x 120 pontas de pipeta

Acessórios para o analisador MODULAR ANALYTICS E170:

- Ref. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l de tampão do sistema
- Ref. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l de solução de limpeza para a célula de leitura
- Ref. 03023141, PC/CC-Cups, 50 cuvetes para pré-aquecimento do ProCell M e do CleanCell M antes de usar
- Ref. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml de solução de limpeza para finalização da análise e lavagem durante a mudança de reagentes
- Ref. 12102137, AssayTip/AssayCup Combimagazine M, 48 tubuleiros x 84 cuvetes de reacção ou pontas de pipeta, sacos para lixo
- Ref. 03023150, Wasteliner, sacos para lixo
- Ref. 03027651, SysClean Adapter M

Acessórios para todos os analisadores:

- Ref. 11298500, Elecsys SysClean, 5 x 100 ml de solução de limpeza do sistema

Realização do ensaio

Para assegurar a correcta execução do ensaio, é importante cumprir as instruções fornecidas neste documento para o analisador utilizado. Consulte o manual do operador apropriado para obter informações mais específicas sobre o ensaio feito no analisador.

A ressuspensão das micropartículas é efectuada automaticamente antes de usar. Introduza os parâmetros específicos do teste através dos códigos de barras dos reagentes. Se, em algum caso excepcional, não for possível ler o código de barras, o código numérico de 15 dígitos deverá ser introduzido manualmente.

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20°C e coloque-os no disco dos reagentes (20°C) do analisador. Evite a formação de espuma. O sistema regula **automaticamente** a temperatura dos reagentes e a abertura/fecho dos frascos.

Analisador Elecsys 1010: Eleve a temperatura dos reagentes refrigerados até aprox. 20-25°C e coloque-os no disco dos reagentes/amostras do analisador (temperatura ambiente a 20-25°C). Evite a formação de espuma. **Abra** as tampas dos frascos **manualmente** antes de usar e **feche manualmente** depois de usar. Conserve a 2-8°C depois de usar.

Calibração

Rastreabilidade: Este método foi padronizado contra padrões de referência através da pesagem da digitoxina numa matriz de soro humano isento de analito.

Cada dispositivo de reagentes do teste Elecsys Digitoxin contém um código de barras com informações específicas para a calibração do lote de reagentes em questão. A curva principal previamente definida é adaptada ao analisador através do Elecsys Digitoxin CalSet.

Frequência das calibrações: Uma calibração por lote de reagentes utilizando reagente recém-colocado (i.e., dentro de um máximo de 24 horas após ter sido registado no analisador). Devem ser feitas as seguintes recalibrações:

Analisadores MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 2010:

- passado 1 mês (28 dias) quando se utiliza o mesmo lote de reagentes
- passados 7 dias (quando se utiliza o mesmo dispositivo de reagentes no analisador)

Analisador Elecsys 1010:

- com cada dispositivo de reagentes
- passados 7 dias (temperatura ambiente de 20-25°C)
- passados 3 dias (temperatura ambiente de 25-32°C)

Para todos os analisadores:

- conforme necessário: p. ex., em resultados de ensaios de controlo de qualidade fora dos limites especificados.

Controlo de qualidade

Para o controlo de qualidade, utilize Elecsys PreciControl Cardiac 1 e 2 ou Elecsys PreciControl Universal 1 e 2.

Adicionalmente pode ser utilizado outro material de controlo adequado. Efectue os controlos dos diversos intervalos de concentração como determinações simples, pelo menos uma vez em cada 24 horas, quando o teste estiver a ser utilizado, uma vez por dispositivo de reagentes e a seguir a cada calibração. Os intervalos e limites de controlo devem ser adaptados às exigências específicas de cada laboratório. Os valores obtidos devem situar-se dentro dos limites definidos. Cada laboratório deve estabelecer as medidas correctivas a tomar no caso de os valores se situarem fora dos limites.

Cálculo

O analisador calcula automaticamente a concentração de analito de cada amostra (em nmol/l ou ng/ml).

Factores de conversão: nmol/l x 0,76 = ng/ml
ng/ml x 1,31 = nmol/l

Limitações – interferências

O ensaio não é afectado pela icterícia (bilirrubina < 633 µmol/l ou < 37 mg/dl), hemólise (Hb < 0,683 mmol/l ou < 1,1 g/dl), lipemia (Intralipid < 1.500 mg/dl) e biotina < 205 nmol/l ou < 50 ng/ml.

Critério: recuperação dentro de ± 10% do valor inicial.

Nos doentes em tratamento com doses elevadas de biotina (i.e. > 5 mg/dia), as amostras só deverão ser colhidas no mínimo 8 horas após a última administração de biotina.

Não foi observada interferência do factor reumatóide até uma concentração de 1.500 UI/ml.

Foram efectuados testes in vitro com 39 fármacos frequentemente utilizados. Não se encontrou qualquer interferência com o ensaio.

As amostras de doentes que utilizam Uzara podem apresentar resultados de digitoxina falsamente elevados.

Devido a uma reacção cruzada de 1,1%, a ouabaina pode dar origem a valores de digitoxina falsamente elevados. Em casos isolados, podem ser encontradas concentrações de glicósidos que não se correlacionam com os valores esperados baseados na posologia do fármaco. As causas podem ser a não-adesão do paciente, por exemplo, ou uma pré-medicação que não tenha sido levada em consideração.

Foram identificadas substâncias imunoreactivas semelhantes à digoxina (DLIS - digoxin-like immunoreactive substances) no sangue de doentes com insuficiência renal, insuficiência hepática e grávidas no terceiro trimestre. Estudos realizados demonstraram que a presença de DLIS numa amostra pode resultar num aumento falso de digoxina quando o doseamento é feito com um imunoensaio à venda no mercado. As DLIS podem interferir com os ensaios da digitoxina.

O risco potencial de interferência por interações imunológicas entre os componentes do teste e soros raros foi minimizado através da inclusão de aditivos adequados.

Em casos isolados, podem ocorrer interferências devido a títulos extremamente elevados de anticorpos para a estreptavidina e para o ruténio. O teste contém aditivos que minimizam estes efeitos.



Digitoxin

Digitoxina

Quando o objectivo é o diagnóstico, os resultados devem ser sempre interpretados em conjunto com a anamnese do paciente, o exame clínico e outros resultados.

Intervalo de medição

2,62-105 nmol/l ou 2,00-80,0 ng/ml (definido pelo limite de detecção inferior e pelo máximo da curva principal). Os valores inferiores ao limite de detecção são indicados como < 2,62 nmol/l ou < 2,00 ng/ml e os valores acima do intervalo de medição como > 105 nmol/l ou > 80 ng/ml (ou até 210 nmol/l ou 160 ng/ml no caso das amostras diluídas 2 vezes).

Diluição

As amostras que contêm concentrações de digitoxina superiores ao intervalo de medição podem ser diluídas com o Elecsys Diluent Universal. A diluição recomendada é de 1:2 (feita automaticamente pelos sistemas MODULAR ANALYTICS E170 e Elecsys 1010/2010 ou manualmente). A concentração da amostra diluída tem de ser > 39 nmol/l ou > 30 ng/ml. Após a diluição manual, multiplique o resultado pelo factor de diluição. Após a diluição pelos analisadores, o software do analisador MODULAR ANALYTICS E170 e dos analisadores Elecsys 1010/2010 toma automaticamente em consideração a diluição ao calcular a concentração da amostra.

Valores teóricos

Na bibliografia, o nível sérico terapêutico médio para a digitoxina está indicado como sendo de 13-39 nmol/l ou 10-30 ng/ml.³

Uma vez que os níveis séricos terapêuticos e tóxicos se podem sobrepor, deve-se ter em consideração a monitorização dos níveis de glicosídeos assim como os resultados clínicos por forma a clarificar uma eventual intoxicação por digitalis. Consultar também a secção "Limitações – interferências". Cada laboratório deve verificar a transferibilidade dos valores teóricos para a sua própria população de pacientes e, se necessário, determinar os seus próprios intervalos de referência.

Dados específicos sobre o desempenho

São apresentados a seguir dados representativos do desempenho nos analisadores. Os resultados podem diferir de laboratório para laboratório.

Precisão

A reprodutibilidade foi determinada com reagentes Elecsys, uma pool de soros humanos e controlos de acordo com um protocolo modificado (EP5-A) do NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards): 6 vezes por dia durante 10 dias (n = 60), precisão intra-ensaio no analisador MODULAR ANALYTICS E170, n = 21. Obtiveram-se os seguintes resultados:

Elecsys 1010/2010	Precisão intra-ensaio					Precisão total		
	Média		DP		CV	DP		CV
Amostra	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	%
SH ^b 1	4,15	3,17	0,236	0,180	5,7	0,271	0,207	6,5
SH 2	33,9	25,8	0,769	0,587	2,3	0,827	0,631	2,4
SH 3	73,6	56,2	1,262	0,963	1,7	1,936	1,478	2,6
PC U ^c 1	26,5	20,3	0,676	0,516	2,6	0,804	0,614	3,0
PC U2	53,0	40,4	0,968	0,739	1,8	1,592	1,215	3,0

b) SH = soro humano

c) PC U = PreciControl Universal

MODULAR ANALYTICS E170										
Amostra	Precisão intra-ensaio					Precisão total				
	Média		DP		CV	Média		DP		CV
	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%	nmol/l	ng/ml	nmol/l	ng/ml	%
SH 1	8,45	6,45	0,19	0,15	2,3	8,43	6,43	0,34	0,26	4,0
SH 2	29,2	22,3	0,62	0,47	2,1	29,2	22,3	0,76	0,58	2,6
SH 3	79,0	60,3	1,20	0,91	1,5	76,9	58,7	1,90	1,45	2,5
PC U1	22,0	16,8	0,52	0,39	2,3	22,2	17,0	0,61	0,47	2,8
PC U2	45,9	35,0	0,78	0,60	1,7	47,0	35,9	1,33	1,02	2,8

Sensibilidade analítica (limite de detecção inferior)

2,62 nmol/l ou 2,00 ng/ml

O limite de detecção representa o nível de analito mais baixo mensurável passível de ser distinguido de zero.

Comparação dos métodos

Uma comparação do teste Elecsys Digitoxin (y) com o ensaio CEDIA Digitoxin (x) utilizando amostras clínicas, teve como resultado as seguintes correlações (ng/ml):

Número de amostras medidas: 82

Regressão Passing/Bablok¹⁰

Declive: 0,95 (intervalo de confiança de 95%: 0,93-1,11)

Intercepção: -0,30 (intervalo de confiança de 95%: -2,88-0,08)

Coeficiente de correlação: 0,912

As concentrações das amostras variaram entre aprox. 6,5 e 55 nmol/l (aprox. 5 e 42 ng/ml).

Especificidade analítica

Para os anticorpos policlonais utilizados, observaram-se as seguintes reacções cruzadas:

	Concentrações analisadas ng/ml	Reactividade cruzada %
Cortisol	2000	n.d. ^d
Corticosterona	2000	n.d.
DHEA-S	2000	n.d.
Prednisolona	2000	n.d.
Ouabaina	2000	1,1
Prednisona	1000	n.d.
Estradiol	200	n.d.
Progesterona	200	n.d.
Proscilaridina	5000	3,6
Estrofantina-K	500	40
Testosterona	200	n.d.
Digitoxigenina-mono-digitoxósido	40	153
Digitoxigenina-bis-digitoxósido	40	146
Digitoxigenina	40	220
Dihydrodigoxina	25	n.d.
Digoxigenina-mono-digitoxósido	25	n.d.
Digoxigenina-bis-digitoxósido	25	n.d.
Digoxina	25	n.d.
Digoxigenina	25	n.d.

d) n.d. = não detectável; reacções cruzadas inferiores ao limite de detecção

Bibliografia

- Oellerich M. Pharmaka (Drug monitoring). In: Thomas L (ed.). Labor und Diagnose, TH-Books, Frankfurt, 5. edition, 1998:1174. Englisch: Clinical Laboratory. 1st English Edition 1998:1151.
- Jortani SA, Valdes R Jr. Digoxin and Its Related Endogenous Factors Critical Reviews. Clin Lab Sci 1997;34(3):225-274.
- Valdes R, Jortani SA, Gheorghiadu M. Standards of laboratory practice: cardiac drug monitoring. Clin Chem 1998;44(5):1096-1109.
- Smith TW. Pharmacokinetics, Bioavailability and Serum Levels of Cardiac Glycosides. J Am Coll Cardiol 1985;5:43A-50A.
- Doherty JE. Digitalis glycosides. Pharmacokinetics and their clinical implications. Ann Internal Med 1973;79:229-238.
- Perrier D, Mayerson M, Marcus FI. Clinical pharmacokinetics of digitoxin. Clin Pharmacokin 1977;2:292-311.
- Beller GA, Smith TW, et al. Digitalis Intoxication: A Prospective Clinical Study with Serum Level Correlations. New Engl J Med 1971;284:989-997.
- Young DS. Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests, 2nd edition, 1997:3-180.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt;1996:8. ISBN 3-928865-22-6:32/33.
- Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783-790.

NOTA PARA O COMPRADOR: LIMITED LICENSE

A aquisição deste produto permite que o comprador o utilize exclusivamente



Digitoxin

Digitoxina

para diagnóstico in vitro humano pela tecnologia ECL. Nenhuma patente geral ou outra licença de qualquer tipo, à exceção deste direito específico de uso de compra, é concedida por este meio. Este produto não pode ser usado pelo comprador na pesquisa/desenvolvimento em ciências da vida, em testes de auto-diagnóstico, na identificação/desenvolvimento de drogas ou em qualquer utilização ou teste veterinário, alimentar, de água ou ambiental.

Para mais informações, consulte o manual do operador adequado ao analisador, as folhas de aplicação respectivas, a informação do produto e os folhetos informativos de todos os componentes necessários.

cobas

As alterações ou os acréscimos significativos estão assinalados por uma barra de alteração na margem. As alterações dos parâmetros de teste do código de barras do reagente que já foram introduzidas devem ser editadas manualmente.
©2005 Roche Diagnostics

CE

 Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

