

 IMMULITE[®]
2000

Digitoxin

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 Digitoxin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of digitoxin in serum, as an aid in the therapeutic administration of this cardioglycoside.

Catalog Numbers: **L2KDG2** (200 tests), **L2KDG6** (600 tests)

Test Code: **DGT** Color: **Red**

CDC Analyte Identifier Code: 1303
CDC Test System Identifier Code: 10418
CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Digitoxin is a long-acting cardiac glycoside used in the treatment of congestive heart failure and certain arrhythmias. It is structurally identical to digoxin except for the absence of a single hydroxyl group. Being less polar, digitoxin is absorbed more completely, and circulates to a much greater extent protein-bound. In the liver, it is extensively metabolized to both active and inactive forms. Digitoxin has a comparatively long half-life of 5 to 7 days and, except in the nephrotic syndrome, is largely unaffected by renal dysfunction.

A transient peak is associated with the distribution phase; thereafter the circulating level exhibits a steady and very gradual decline. Accordingly, blood samples for digitoxin analysis should be collected just before the next dose — or in any case not less than 6 hours after the previous dose — to allow time for plasma and tissue levels to reach equilibrium.

Serum determinations can assist in verifying compliance and in adjusting the dose to achieve a desired plasma concentration. Monitoring circulating digitoxin levels is especially valuable when there are enterohepatic or renal complications, and during concomitant therapy with drugs like quinidine, which can affect the pharmacokinetics of digitoxin.

It must be remembered, however, that the relation between circulating level and clinical response varies greatly from one

individual to another, due to the many factors which are at work. This is reflected in the considerable overlap between therapeutic and toxic ranges summarized in the literature.

Thus, circulating levels of approximately 10 to 25 ng/mL are observed in the majority of patients exhibiting a satisfactory therapeutic response to digitoxin, while levels greater than 45 ng/mL are typical of patients with symptoms of digitoxin toxicity.^{2,4,16} But concentrations higher than the conventional therapeutic range may be required to control certain arrhythmias. Conversely, circulating levels well below 45 ng/mL may give rise to symptoms of toxicity in patients rendered more sensitive to the drug's action by, for example, a lowered potassium level. Even so, the higher the circulating level, the more probable it is that clinical symptoms of toxicity can be attributed to the drug — and the lower the level, the less likely.

Serum determinations should supplement clinical judgment, not substitute for it. An isolated value should not be used as the sole criterion for the assessment of efficacy or toxicity; rather it should always be interpreted in the total clinical context.

Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Digitoxin is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme immunoassay.

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

Collect blood into plain (without anticoagulant) or heparinized tubes, and separate the serum from the cells. The time of collection should be noted.

To avoid misleadingly high digitoxin results, patient samples should be drawn just before the next dose — or in any case no less than six hours after the administration of this cardiac glycoside.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt

by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Digitoxin has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

Volume Required: 10 µL serum.

Storage: 7 days at 2–8°C or 2 months at –20°C.

Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

Reagents: Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

Digitoxin Bead Pack (L2DG12)

With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-digitoxin antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KDG2: 1 pack. **L2KDG6:** 3 packs.

Digitoxin Reagent Wedge (L2DGA2)

With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to digitoxin in buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.
L2KDG2: 1 wedge. **L2KDG6:** 3 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

Digitoxin Adjustors (LDGL, LDGH)

Two vials (Low and High), 4 mL each, of digitoxin in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KDG2: 1 set. **L2KDG6:** 2 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

Kit Components Supplied Separately

L2SUBM: Chemiluminescent Substrate

L2PWSM: Probe Wash

L2KPM: Probe Cleaning Kit

LRXT: Reaction Tubes (disposable)

SDCM: Bi-level, multi-constituent control

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval: 2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of digitoxin.

Therapeutic Range

The following results are reported in the literature for therapeutic and toxic circulating levels of digitoxin.¹⁶

	ng/mL	nmol/L
Therapeutic Range	10–25	13–33
Toxic Level	>45	>59

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

Limitations

Many physiological, pharmacological, pathological and genetic factors may affect the interpretation of results (see the Summary and Explanation section).

In cases of overdosage, specimens should be obtained *before* administering digoxin immune Fab antidote preparations (e.g. Digibind[®]) since these can be expected to interfere with any digitoxin immunoassay procedure. Once such a preparation has been administered, accurate determinations of digitoxin can be made only by specialized techniques (not routinely available in most clinical settings) until the Fab fragments have been eliminated from the body: this takes several days for patients with intact renal function, and a week or longer for patients with renal impairment. In addition to *in vitro* effects, these preparations, administered intravenously, cause a rapid rise in pharmacologically inactive, Fab-bound, total circulating digitoxin that may be detected immunologically.¹⁵

The presence of Uzara[®] in the serum of patients can result in falsely elevated digitoxin results.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of

interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in ng/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Conversion Factor:

ng/mL × 1.307 → nmol/L

Calibration Range: 5 – 60 ng/mL
(6.5 – 78 nmol/L).

Analytical Sensitivity: 1 ng/mL
(1.3 nmol/L)

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of multiple days, for a total of 40 runs and 80 replicates. (See "Precision" table.)

Linearity: Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

Recovery: Samples spiked 1 to 19 with 3 digitoxin solutions (193, 385 and 770 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for digitoxin. (See "Specificity" table.)

Bilirubin: Presence of conjugated and unconjugated bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 600 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Alternate Sample Type: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 20 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton

Dickinson SST[®] vacutainer plastic tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of digitoxin, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Digitoxin procedure.

(Heparin) = 0.90 (Serum) + 0.26 ng/mL
r = 0.987

(EDTA) = 0.89 (Serum) + 0.39 ng/mL
r = 0.973

(SST) = 1.07 (Plain Tubes) – 0.07 ng/mL
r = 0.975

Means:

7.96 ng/mL (Serum)
7.46 ng/mL (Heparin)
7.50 ng/mL (EDTA)
8.48 ng/mL (SST)

Method Comparison 1: The assay was compared to DPC's IMMULITE Digitoxin on 86 patient samples. (Concentration range: approximately 7 to 57 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.97 (IML) – 0.4 ng/mL
r = 0.98

Means:

24.0 ng/mL (IMMULITE 2000)
25.1 ng/mL (IMMULITE)

Method Comparison 2: The assay was also compared to DPC's Coat-A-Count Digitoxin radioimmunoassay on 89 patient samples. (Concentration range: approximately 5 to 55 ng/mL. See graph.) By linear regression:

(IML 2000) = 1.04 (Coat-A-Count) – 1.1 ng/mL
r = 0.98

Means:

24.2 ng/mL (IMMULITE 2000)
24.1 ng/mL (Coat-A-Count)

References

- 1) Aronson JK. Clinical pharmacokinetics of cardiac glycosides in patients with renal dysfunction. *Clin Pharmacokinet* 1983;8:155-78.
- 2) Baer DM. Key points for interpretation of drug concentrations: digoxin and digitoxin. In: Baer DM, Dito WR, editors. *Interpretations in therapeutic drug monitoring*. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, 1982: 351-4.
- 3) Bresnahan JF, Vlietstra RE. Digitalis glycosides. *Mayo Clin Proc* 1979;54:675-84.
- 4) Dito WR. Cardiac glycosides and therapeutic drug monitoring. In: Baer DM, Dito WR, editors. *Interpretations in therapeutic drug monitoring*. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, 1981: 61-73.
- 5) Fenster PE, et al. Digitoxin-quinidine interaction: pharmacokinetic evaluation. *Ann Int Med* 1980;93:698-701.
- 6)

- 7) Garty M. Digitoxin elimination reduced during quinidine therapy. *Ann Int Med* 1981;94:35-7.
- 8) Kuemmel HC, et al. Studies to determine individual toxic doses of digitoxin. *Munchener Med Wochenschr* 1982;124:545-9.
- 9) Kuhlmann J. Sources of digitalis intoxication. *Med Klinik* 1982;77:39-44.
- 10) Larsen A, Storstein L. Digitoxin kinetics and renal excretion in children. *Clin Pharmacol Ther* 1983;33:717-27.
- 11) Maier C, Kolenda KD. Digitoxin in the presence of hepatorenal failure. *Deutsche Med Wochenschr* 1983;108:1475-80.
- 12) Rietbrock N, Alken RG. The therapy of heart failure with digitalis. *Deutsche Med Wochenschr* 1980;105:1622-8.
- 13) Smith TW. Digitalis in the management of heart failure. *Hosp Pract* 1984 Mar;19(3):67-92.
- 14) Smith TW, et al. Digitalis glycosides: mechanisms and manifestations of toxicity. *Prog Cardiovasc Dis* 1984;26:413-58 and 495-540.
- 15) National Committee for Clinical Laboratory Standards. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.
- 16) Digoxin immune Fab. In: McEvoy GK, editor. *AHFS Drug Information* 92. American Society of Hospital Pharmacists, 1992: 1977-81.
- 17) National Academy of Clinical Biochemistry. Guidelines for therapeutic drug monitoring services. Printed by Durik Advertising, Inc., 1999: 82-83.

Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

Tables and Graphs

Precision (ng/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	8.9	0.73	8.2%	1.04	11.7%
2	16.4	1.11	6.7%	1.28	7.8%
3	24.1	1.54	6.4%	2.11	8.8%
4	31.9	1.73	5.4%	3.18	10.0%
5	44.1	2.68	6.1%	4.14	9.4%

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	2 in 2	18.0	—	—
	1 in 2	10.3	9.0	114%
2	2 in 2	26.3	—	—
	1 in 2	12.1	13.2	92%
3	4 in 4	33.1	—	—
	2 in 4	16.7	16.6	101%
	1 in 4	8.78	8.28	106%
4	4 in 4	39.3	—	—
	2 in 4	19.0	19.7	96%
	1 in 4	10.4	9.83	106%
5	8 in 8	49.7	—	—
	4 in 8	27.0	24.9	108%
	2 in 8	13.2	12.4	106%
	1 in 8	5.79	6.21	93%

Recovery (ng/mL)

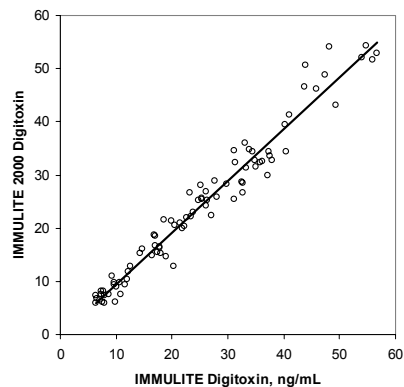
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	5.27	—	—
	A	15.9	14.6	109%
	B	24.2	24.3	100%
	C	48.4	43.5	111%
2	—	8.91	—	—
	A	17.9	18.1	99%
	B	27.9	27.7	101%
	C	42.2	47.0	90%
3	—	10.8	—	—
	A	20.0	19.9	101%
	B	28.2	29.6	95%
4	—	14.9	—	—
	A	23.4	23.8	98%
	B	30.9	33.5	92%
5	—	23.2	—	—
	A	30.6	31.6	97%
	B	39.1	41.3	95%
	C	55.6	60.5	92%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	% Cross-reactivity ³
Digitoxin	—	100%
Digoxin	250	7.4%
Aldosterone	100,000	0.02%
Amikacin	100,000	ND
Corticosterone	100,000	0.01%
Cortisol	100,000	ND
Cortisone	100,000	0.01%
Dexamethasone	100,000	ND
11-Deoxycorticosterone	100,000	0.02%
Hydrocortisone	100,000	0.01%
Estradiol	100,000	ND
Estriol	100,000	ND
Methotrexate	100,000	ND
Prednisolone	100,000	ND
Prednisone	100,000	ND
Pregnenolone	100,000	ND
Progesterone	100,000	0.03%
Spirolactone	100,000	0.01%
Testosterone	100,000	0.02%
Tobramycin	100,000	ND

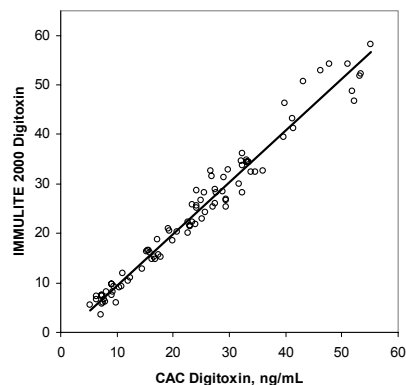
ND: not detectable.⁴

Method Comparison 1



$$(IML\ 2000) = 0.97 (IML) - 0.4\ \text{ng/mL}$$
$$r = 0.98$$

Method Comparison 2



(IML 2000) = 1.04 (Coat-A-Count) – 1.1 ng/mL
r = 0.98

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** Digitoxin: Digitoxin.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 en 8. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Method Comparison:** Digitoxin: Digitoxina.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵8 dans 8. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée%, ⁴ND: non détectable. **Method Comparison:** Digitoxin: Digitoxine.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵8 in 8. **Recovery:** ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A. **Specificity:** ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Percentuale di Crossreattività, ⁴ND: non determinabile. **Method Comparison:** Digitoxin: Digitossina.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coeficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 em 8. **Recovery:** ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Percentagem de reação cruzada,

⁴ND: não detectável. **Method Comparison:** Digitoxin: Digitoxina.

Deutsch

Digitoxin - IMMULITE 2000

Anwendung: Zur in vitro Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE 2000 Systems - zur quantitativen Bestimmung von Digitoxin im Serum in der Überwachung einer medikamentösen Behandlung mit Herzglykosiden.

Artikelnummern: **L2KDG2** (200 Tests), **L2KDG6** (600 Tests)

Testcode: **DGT** Farbe: **rot**

Klinische Relevanz

Digitoxin ist ein hochwirksames Herzglykosid, dass in der Behandlung der Herzinsuffizienz und verschiedener Arrhythmien eingesetzt wird. Es ist bis auf eine Hydroxylgruppe strukturell mit dem Digoxin identisch. Durch seine geringere Polarität wird Digitoxin vollständiger adsorbiert und zirkuliert in größerem Ausmaß proteingebunden als Digoxin. Digitoxin wird in der Leber sowohl in aktive als auch inaktive Derivate abgebaut. Es hat eine verhältnismäßig lange Halbwertszeit von 5 bis 7 Tagen und ist durch Nierenfunktionsstörungen (Ausnahme: Nephrose) weitgehend unbeeinflusst.

Ein vorübergehender Spiegelanstieg ist mit der Verteilungsphase assoziiert, nachfolgend kommt es zum kontinuierlichen und allmählichen Abfall des Medikamentenspiegels. Die Blutabnahme zur Spiegelbestimmung sollte deshalb unmittelbar vor der nächsten Medikamentengabe, frühestens jedoch 6 Stunden nach der letzten Dosis erfolgen, um ein Verteilungsgleichgewicht zwischen Plasma und Gewebe zu gewährleisten.

Die Serummessung des Digitoxins ist geeignet, die Patientencompliance zu überwachen und den gewünschten Serumspiegel einzustellen. Besonders wertvoll ist das Monitoring des zirkulierenden Digitoxins bei enterohepatischen oder renalen

Komplikationen und im Fall von Ko-Medikation mit Präparaten wie Quinidin u. a., die die Pharmakokinetik des Digitoxins beeinflussen können.

Der Zusammenhang zwischen Digitoxinspiegel und klinischem Effekt kann individuell sehr unterschiedlich sein. Dies wird auch durch die, in der Literatur beschriebenen, Überschneidung von therapeutischem und toxischem Bereich, reflektiert.

Digitoxinspiegel von 10–25 ng/ml werden bei der Mehrheit der Patienten mit einem zufriedenstellenden therapeutischen Effekt beobachtet. Dagegen sind Serumkonzentrationen größer 45 ng/ml typisch für Patienten mit Symptomen einer Digitoxinintoxikation.^{2,4,16} Trotzdem können Konzentrationen oberhalb des üblichen therapeutischen Bereiches notwendig sein, um bestimmte Arrhythmien effektiv zu behandeln. Im Gegensatz dazu können Digitoxinspiegel deutlich unter 45 ng/ml u. U. bei Patienten bereits Intoxikationssymptome hervorrufen (z. B. bei gleichzeitig niedrigem Serumkalium). Grundsätzlich gilt: Je höher der Digitoxinspiegel, desto wahrscheinlicher ist das Medikament die Ursache auftretender Intoxikationssymptome. Ist der Spiegel dagegen niedrig, ist dieser Zusammenhang weniger wahrscheinlich.

Serumspiegelbestimmungen sollen die klinische Beurteilung lediglich ergänzen und sie keineswegs ersetzen. Ein einzelner Messwert darf nicht als alleiniges Kriterium für die Entscheidung über therapeutische Effizienz oder Intoxikation herangezogen werden; stets ist der klinische Kontext zu berücksichtigen.

Methodik

IMMULITE 2000 Digitoxin ist ein kompetitiver Festphasen-, Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 min.

Probengewinnung

Die Blutentnahme soll in Röhrchen ohne Zusätze oder Trenngel erfolgen. Die Blutproben immer zum selben Zeitpunkt zu entnehmen.

Um irreführend hohe Digitoxin Konzentrationen zu vermeiden, soll die

Blutentnahme vor oder mindestens 6 Stunden nach einer Gabe von Herzglykosiden erfolgen.

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse mit Vorsicht zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantientherapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE 2000 Digitoxin sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 10 µl Serum.

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C, oder 2 Monate bei –20°C.

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

Reagenzien: Bei 2–8 °C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

Chemilumineszenz-Substrat:

Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser benutzen.

Im Lieferumfang enthalten:

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

Digitoxin Kugel-Container (L2DG12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit Antikörpern gegen Digitoxin (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KDG2: 1 Container.
L2KDG6: 3 Container.

Digitoxin Reagenzbehälter (L2DGA2)

Mit Barcode. 11,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes Digitoxin in Pufferlösung. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.
L2KDG2: 1 Behälter.
L2KDG6: 3 Behälter.

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

Digitoxin Kalibratoren (LDGL, LDGH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch), jeweils mit 4,0 ml Digitoxin in prozessiertem Humanserum (mit Konservierungsmittel). 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.

L2KDG2: 1 Set. **L2KDG6:** 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasröhrchen kleben, so dass die

Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substrat

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

SDCM: Multikomponentenkontrolle in zwei Konzentrationen

Ebenfalls benötigt
Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
Teströhrchen; Kontrollen.

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Hinweise zur Vorbereitung, täglichen Inbetriebnahme des Systems, der Kalibrierung sowie Verfahren zur Test- und Qualitätskontrolle entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:

2 Wochen.

Qualitätskontrollseren: Kontrollen oder Pool-Seren mit Digitoxin in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Therapeutischer Bereich

Die folgenden therapeutischen und toxischen Serumspiegel werden in der Literatur berichtet.¹⁶

	ng/ml	nmol/l
Therapeutischer Bereich	10–25	13–33
Toxischer Bereich	>45	>59

Diese Grenzwerte sind *lediglich als Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

Grenzen der Methode

Die Interpretation der Ergebnisse kann durch physiologische, pharmakologische, pathologische und genetische Faktoren

beeinflusst werden (siehe „Klinische Relevanz“).

Im Falle einer Digitalis-Überdosierung des Patienten sollte die Probe vor der Gabe von Digitalis-Antitoxin wie Digitalis-Antidot-BM® o. ä. erfolgen, da die hierin enthaltenen Fab-Antikörperfragmente in Digitoxin-Immunoassays interferieren können. Nach der Gabe eines solchen Präparates ist die Digitoxin Bestimmung bis zur Eliminierung der Fab-Fragmente aus dem Körper nur mit speziellen Methoden möglich, die in Routinelabors meist nicht verfügbar sind. Bei Patienten mit intakter Nierenfunktion kann dies mehrere Tage, bei Patienten mit Nierenfunktionsstörungen eine Woche und länger dauern. Zusätzlich zu den in vitro Effekten führt die Gabe von Fab-Fragmenten zum schnellen Anstieg des pharmakologisch inaktiven, Fab-gebundenen, zirkulierenden Gesamt-Digitoxin, welches evtl. von Immunoassays detektiert werden kann.¹⁵

Die Einnahme des Medikamentes Uzara® kann zu falsch erhöhten Digitoxin-Werten führen.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als ng/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden - sofern nicht anders angegeben - aus Serumproben in

Röhrchen ohne Trenngel oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/ml × 1,307 → nmol/l

Messbereich: 5 – 60 ng/ml
(6,5 – 78 nmol/l),

Analytische Sensitivität: 1 ng/ml
(1,3 nmol/l)

Präzision: Proben wurden innerhalb von mehreren Tagen in Doppelbestimmung gemessen (insgesamt 40 Bestimmungen und 80 Einzelmessungen). (Siehe Tabelle "Precision").

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Digitoxin-Lösungen 1:19 versetzt (193, 385 und 770 ng/ml). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer digitoxin-Antikörper. (siehe Tabelle „Specificity“.)

Bilirubin: Konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 600 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Lipämie: Triglyceride hat in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Alternativer Probenotyp: Um die Auswirkungen von verschiedenen Probenarten zu untersuchen, wurde Blut von 20 Freiwilligen in Plastik-Röhrchen ohne Additiva, in Heparin-, EDTA- und Becton Dickinson SST® Vacutainer-Röhrchen gesammelt. Gleiche Volumina der jeweiligen Proben wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Digitoxin versetzt, um Werte im gesamten Kalibrationsbereich zu erhalten, und die Proben anschließend mit dem IMMULITE 2000 Assay für Digitoxin gemessen.

(Heparin) = 0,90 (Serum) + 0,26 ng/ml
r = 0,987

(EDTA) = 0,89 (Serum) + 0,39 ng/ml
r = 0,973

(SST) = 1,07 (ohne Zusatz) – 0,07 ng/ml
r = 0,975

Mittelwerte:

7,96 ng/ml (Serum)
7,46 ng/ml (Heparin)
7,50 ng/ml (EDTA)
8,48 ng/ml (SST)

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde unter Verwendung von 86 Patientenproben mit dem IMMULITE Digitoxin Assay von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: circa 7–57 ng/ml. Siehe Grafik.) Berechnung der linearen Regression:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 0,4 ng/ml
r = 0,98

Mittelwerte:

24,0 ng/ml (IMMULITE 2000)
25,1 ng/ml (IMMULITE)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde auch unter Verwendung von 89 Patientenproben mit dem Digitoxin Coat-A-Count RIA der DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: circa 5–55 ng/ml. Siehe Grafik.) Berechnung der linearen Regression:

(IML 2000) = 1,04 (Coat-A-Count) – 1,1 ng/ml
r = 0,98

Mittelwerte:

24,2 ng/ml (IMMULITE 2000)
24,1 ng/ml (Coat-A-Count)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

IMMULITE 2000 Digitoxina

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico in vitro con el Analizador IMMULITE 2000 para la medición cuantitativa de digitoxina en suero, como una ayuda en el seguimiento de la administración terapéutica de este cardioglicósido.

Referencia: **L2KDG2** (200 tests),
L2KDG6 (600 tests)

Código del Test: **DGT**
Código de Color: **Rojo**

Resumen y Explicación del Test

La digitoxina es un glicósido cardíaco de larga duración, usado en el tratamiento de fallos cardíacos congestivos y en determinadas arritmias. Es estructuralmente idéntica a la digoxina excepto por la ausencia de un único grupo hidroxilo. Al ser menos polar, la digitoxina se absorbe más completamente y circula a mayor cantidad unida a proteínas. En el hígado, es metabolizada tanto en su forma activa como no activa. La digitoxina tiene una vida media más larga entre 5 y 7 días y, excepto en los síndromes nefróticos, no es afectada por las disfunciones renales.

Presenta un pico de concentración está asociado a su administración; luego, los niveles circulantes muestran un decaimiento sostenido y gradual. Por ello, las muestras de sangre para el análisis de digitoxina deben recogerse justo antes de la siguiente dosis — o en cualquier caso no más tarde de 6 horas después de la dosis previa — para permitir que los niveles plasmáticos y tisulares alcancen el equilibrio.

Las determinaciones séricas pueden ayudar en la verificación y en el ajuste de la dosis para alcanzar la concentración plasmática deseada. El seguimiento de los niveles circulantes de digitoxina es de especial interés cuando existen complicaciones enterohepáticas o renales, y durante la administración conjunta de determinados medicamentos como la quinidina, que pueden afectar la farmacocinética de la digitoxina.

Se debe recordar, no obstante, que la relación entre los niveles circulantes y la respuesta clínica varía considerablemente de un individuo a otro dependiendo de múltiples factores que entran en juego. Esto se refleja en el solapamiento de rangos terapéuticos y tóxicos que se recogen en la bibliografía.

Así, niveles circulantes de aproximadamente 10 a 25 ng/ml se observan en la mayoría de los pacientes que muestran una respuesta satisfactoria al tratamiento con digitoxina, mientras que niveles superiores a 45 ng/ml son típicos de

pacientes con síntomas de toxicidad por digitoxina.^{2,4,16} Aunque concentraciones superiores al rango terapéutico convencional pueden requerirse para el control de ciertas arritmias. Al contrario, niveles circulantes inferiores a 45 ng/ml pueden generar síntomas de toxicidad en pacientes más sensibles a la acción de esta droga, por ejemplo, un nivel muy bajo de potasio. Aún así, lo más probable es atribuir los síntomas clínicos de la toxicidad al fármaco cuando el nivel circulante de éste es alto y menos probable cuando el nivel es más bajo."

Las determinaciones séricas deben ayudar al juicio clínico, no sustituirle. Un valor aislado no debe usarse como el único criterio para asegurar la eficacia o toxicidad de la dosis, debería interpretarse en el contexto total de la historia clínica del paciente.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 Digitoxina es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

Recoger la muestra en tubo sin anticoagulantes o en tubos heparinizados, y separar el suero de las células. La hora de la recogida debe ser anotada.

Para evitar errores con resultados elevados de digitoxina, las muestras de los pacientes deben ser extraídas inmediatamente antes de la dosis siguiente — o en cualquier caso, no antes de 6 horas después de la administración de este glicósido cardíaco.

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a

la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El Digitoxina IMMULITE 2000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

Volumen requerido: 10 µl de suero.

Conservación: 2–8°C durante 7 días, o 2 meses a –20°C.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo a la legislación en vigor.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivos, en las cañerías de cobre y plomo.

Sustrato quimioluminiscente: Evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

Agua: Usar agua destilada o desionizada.

Materiales suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Cartucho de bolas de Digitoxina (L2DG12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con de anticuerpos policlonales de conejo anti-digitoxina. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KDG2: 1 cartucho.
L2KDG6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de Digitoxina (L2DGA2)

Con código de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con digitoxina en solución tampón. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KDG2: 1 vial. **L2KDG6:** 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

Ajustadores de Digitoxina (LDGL, LDGH)

Dos viales (bajo y alto), cada uno con 4 ml, de Digitoxina en suero humano procesado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse o estable a –20°C durante 6 meses.

L2KDG2: 1 juego. **L2KDG6:** 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

Componentes del kit que se suministran por separado

L2SUBM: Substrato quimioluminiscente

L2PWSM: Lavado de sonda

L2KPM: Kit de limpieza de sonda

LRXT: Tubos de reacción (desechables)

SDCM: Módulo Control de Drogas del Suero

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general

según lo definido en el manual del operador de IMMULITE 2000.

Consulte el Manual del operador de IMMULITE 2000 para: la preparación, instalación, dilución, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

Muestras de Control de calidad: Use controles o pools de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de digitoxina (bajo y alto).

Intervalo Terapéutico

La literatura informa de los resultados siguientes, para valores circulantes tóxicos y terapéuticos.¹⁶

	ng/ml	nmol/l
Intervalo terapéutico	10–25	13–33
Nivel tóxica	>45	>59

Estos límites han de considerarse *sólo como una guía*. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

Limitaciones

Muchos factores fisiológicos, farmacológicos, patológicos y genéticos pueden afectar la interpretación de los resultados (ver la sección Resumen y Explicación del Test).

En casos de sobredosis, las muestras deben recogerse antes de ser administrado el antídoto anti-digoxina (e.g. Digibind®) ya que puede interferir en el inmunoanálisis de digitoxina. Una vez que esta preparación haya sido administrada, las determinaciones de digitoxina deben realizarse por técnicas especializadas (no disponibles en la mayoría de los Centros clínicos) hasta que los fragmentos de anticuerpo se hayan eliminado del cuerpo: varios días para pacientes con su función renal inalterada y una semana o más para pacientes con fallo renal. Además de los efectos in vitro, estas preparaciones, administradas intravenosamente, causan una rápida inactivación farmacológica de la digitoxina circulante pero que puede ser detectada inmunológicamente.¹⁵

La presencia de Uzara® en el suero de los pacientes puede generar unos resultados de digitoxina falsamente elevados.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en ng/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación.)

Factor de Conversión:

ng/ml × 1,307 → nmol/l

Intervalo de calibración: 5 – 60 ng/ml (6,5 – 78 nmol/l),

Sensibilidad analítico: 1 ng/ml (1,3 nmol/l)

Precisión: Se analizaron muestras por duplicado durante varios días, para un total de 40 ensayos y 80 replicados. (Ver la tabla "Precision".)

Linealidad: Las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Ver la tabla "Linearity" para resultados representativos.)

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de digitoxina (193, 385 y 770 ng/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para digitoxina. (Ver la tabla "Specificity".)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y libre en concentraciones hasta 200 mg/l no tiene efecto en el ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 600 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos en concentraciones hasta 3 000 mg/dl no tiene efecto alguno en los resultados, en lo correspondiente a la precisión del ensayo.

Tipo de Muestra Alternativa: Para evaluar el efecto de los diferentes tipos de muestras alternativos, se recogió sangre de 20 voluntarios en tubos plásticos normales, tubos con Heparina, tubos con EDTA y tubos vacutainer SST® de Becton Dickinson. Volúmenes iguales de las diferentes muestras fueron sobrecargadas con diferentes concentraciones de Digitoxina, con la finalidad de cubrir todo el rango de calibración del ensayo, y procesadas con el procedimiento Digitoxina IMMULITE 2000.

(Heparina) = 0,90 (Suero) + 0,26 ng/ml
r = 0,987

(EDTA) = 0,89 (Suero) + 0,39 ng/ml
r = 0,973

(SST) = 1,07 (tubos simples) – 0,07 ng/ml
r = 0,975

Medias:

7,96 ng/ml (Suero)

7,46 ng/ml (Heparina)

7,50 ng/ml (EDTA)

8,48 ng/ml (SST)

Comparación de los métodos 1: El ensayo se ha comparado con el Digitoxina IMMULITE de DPC en 86 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 7 – 57 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 0,4 ng/ml
r = 0,98

Medias:

24,0 ng/ml (IMMULITE 2000)

25,1 ng/ml (IMMULITE)

Comparación de los métodos 2: El ensayo se ha comparado con el ensayo con Coat-A-Count de Digitoxina de DPC

en 89 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 5 – 55 ng/ml. Ver el gráfico.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 1,04 (Coat-A-Count) – 1,1 ng/ml
 $r = 0,98$

Medias:
24,2 ng/ml (IMMULITE 2000)
24,1 ng/ml (Coat-A-Count)

Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE 2000 Digitoxine

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la digitoxine dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE 2000, et constitue une aide pour l'administration thérapeutique de ce cardioglycoside.

Référence catalogue :
L2KDG2 (200 tests), **L2KDG6** (600 tests)

Code produit : **DGT** Code couleur : **rouge**

Introduction

La digitoxine est un glycoside cardiaque à durée d'action prolongée, utilisé pour le traitement de l'insuffisance cardiaque congestive et pour certaines arythmies. Sa structure est identique à celle de la digoxine hormis l'absence d'un groupement hydroxyle. Etant moins polaire, la digitoxine est absorbée plus complètement et circule dans une bien plus grande mesure liée à une protéine porteuse. Dans le foie, elle est complètement métabolisée, sous formes active et inactive. La digitoxine a comparativement une demi-vie assez longue, de 5 à 7 jours et, hormis dans le cas du syndrome néphrotique, elle est peu affectée par un dysfonctionnement rénal.

Un pic transitoire est associé à la phase de distribution, après quoi la concentration circulante connaît une diminution constante et très progressive. Les prélèvements sanguins pour le dosage de

la digitoxine doivent donc être réalisés juste avant l'administration d'une nouvelle dose et, en aucun cas, moins de 6 h après la dernière dose, afin que les concentrations tissulaire et plasmatique aient eu le temps de s'équilibrer.

Le dosage sérique peut aider à évaluer l'observance thérapeutique et à ajuster la posologie pour parvenir à la concentration plasmatique souhaitée. Le suivi de la concentration de digitoxine circulante est particulièrement intéressant quand des complications rénale ou entérohépatique existent, ou lors de traitements associés à des médicaments comme la quinidine, qui sont susceptibles d'influer sur la pharmacocinétique de la digitoxine.

Néanmoins, il faudra se rappeler que la relation entre la concentration circulante et la réponse clinique varie beaucoup d'un individu à l'autre, en raison des nombreux paramètres mis en jeu. Ceci est reflété par le chevauchement considérable des concentrations toxiques et des concentrations thérapeutiques citées dans la littérature.

Ainsi, des taux de digitoxine circulante d'environ 10 à 25 ng/ml sont observés chez la plupart des patients pour lesquels on obtient une réponse satisfaisante à la digitoxine, cependant que des taux supérieurs à 45 ng/ml sont habituels chez les patients qui présentent des signes de toxicité à la digitoxine.^{2,4,16} Mais des concentrations supérieures aux concentrations thérapeutiques usuelles peuvent être nécessaires pour traiter certaines arythmies. Inversement, des concentrations plasmatiques pourtant bien inférieures à 45 ng/ml peuvent donner lieu à des symptômes de toxicité chez des patients sensibilisés à l'action de la molécule, dans le cas, par exemple, d'une kaliémie abaissée. Quoi qu'il en soit, plus le taux de digitoxine circulante est élevé, plus la probabilité est grande que des manifestations cliniques de toxicité soient imputables à la molécule, et moins ce taux est élevé, moins la probabilité est grande.

Le dosage sérique devra venir compléter l'appréciation clinique et non s'y substituer. Une valeur isolée ne devra pas être utilisée comme seul critère d'appréciation de l'efficacité ou de la toxicité, elle devra toujours être replacée dans son contexte clinique.

Principe du test

IMMULITE 2000 Digitoxine est un immunodosage enzymatique chimiluminescent par compétition en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Recueil des échantillons sur tubes secs (sans anticoagulant) ou héparinés, et séparer le plasma des cellules. Noter l'heure de prélèvement.

Pour éviter des mesures trompeuses révélant une concentration élevée de digitoxine, les échantillons devront être prélevés juste avant une nouvelle administration du produit et en aucun cas, moins de 6 h après la dernière dose, afin que les concentrations tissulaire et plasmatique aient eu le temps de s'équilibrer.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire ; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret Digitoxine IMMULITE 2000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

Volume nécessaire : 10 µl de sérum.

Conditions de conservation :
7 jours à +2°C/+8°C ou 2 mois à -20°C.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : Conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Éliminer les déchets conformément aux lois en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : Éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Cartouche de billes Digitoxine (L2DG12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la digitoxine. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KDG2: 1 cartouche.

L2KDG6: 3 cartouches.

Cartouche à réactif Digitoxine (L2DGA2)

Avec code-barres. 11,5 ml de solution tamponnée de phosphatase alcaline d'intestins de veau conjuguée à la digitoxine dans un tampon. Stable à +2/+8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KDG2: 1 cartouche.

L2KDG6: 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs Digitoxine (LDGL, LDGH)

Deux flacons (« haut » et « bas ») de 4 ml chacun, de digitoxine dans du sérum humain prétraité, avec conservateur.

Stable à +2°/ +8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

L2KDG2: 1 jeu. **L2KDG6**: 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

Composants du coffret fournis séparément

L2SUBM : Substrat chimiluminescent

L2PWSM : Solution de lavage

L2KPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LRXT : Godets réactionnels (jetables)

SDCM : Contrôle multiparamétrique à deux niveaux de concentration

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes;

Contrôle.

Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE 2000.

Se reporter au manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour : la préparation, le démarrage du système, le dilution, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) d'igotoxine.

Concentrations Thérapeutiques

Les résultats suivants sont rapportés dans la littérature pour les concentrations thérapeutique et toxique circulantes de digitoxine.¹⁶

	ng/ml	nmol/l
Concentrations thérapeutiques	10–25	13–33
Taux de toxicité	>45	>59

Utiliser ces valeurs à titre *indicatif uniquement*. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

Limites

De nombreux facteurs d'ordre physiologique, pharmacologique, pathologique ou génétique sont susceptibles d'influer sur l'interprétation des résultats (se reporter à la section « Présentation générale »).

En cas de surdosage, les prélèvements devront être réalisés avant administration d'un antidote à base de fragments Fab anti-digitoxine (Digibind[®], par exemple), dans la mesure où ces derniers interféreront avec n'importe quelle méthode d'immunodosage de la digitoxine. Une fois qu'une telle préparation a été administrée, un dosage précis de la digitoxine ne peut être obtenu que par des techniques spécialisées (qui ne sont pas disponibles en routine dans la plupart des services hospitaliers) jusqu'à ce que les fragments Fab aient totalement été éliminés : ceci prend plusieurs jours chez des patients ayant une fonction rénale intacte et une semaine ou plus en cas d'insuffisance rénale. En plus de leurs effets *in vitro*, ces préparations administrées en intraveineuse occasionnent une élévation rapide de la digitoxine totale circulante liée aux fragments Fab, qui est biologiquement inactive mais peut être détectée par une méthode immunologique.¹⁵

La présence d'Uzara[®] dans le sérum de patients peut entraîner des résultats faussement élevés en Digitoxine

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato

LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en ng/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis en tubes, sans gel ni activateur de la coagulation.)

Facteur de conversion :
ng/ml \times 1,307 \rightarrow nmol/l

Domaine de mesure : 5 – 60 ng/ml
(6,5 – 78 nmol/l),

Sensibilité analytique : 1 ng/ml
(1,3 nmol/l)

Précision : les échantillons ont été dosés en duplicata sur plusieurs jours, pour obtenir un total de 40 séries et 80 replicata (Voir le tableau « Precision ».)

Test de dilution : Des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de digitoxine (193, 385 et 770 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé est hautement spécifique de la digitoxine. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine, conjuguée ou non, n'a aucun effet sur le

dosage ni sur sa précision si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 600 mg/dl.

Lipémie : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats.

Autres types d'échantillons: Pour estimer l'effet de l'utilisation de différents type d'échantillons, 20 volontaires ont été prélevés sur tubes en plastique secs, héparinés, EDTA et sur tubes en plastique vacutainer SST® Becton Dickinson. Des volumes égaux de ces différents échantillons ont été mélangés avec plusieurs concentrations d' Digitoxine pour obtenir des valeurs à l'intérieur du domaine de mesure du test puis dosés avec le protocole l'IMMULITE 2000 Digitoxine.

(Héparine) = 0,90 (Sérum) + 0,26 ng/ml
r = 0,987

(EDTA) = 0,89 (Sérum) + 0,39 ng/ml
r = 0,973

(SST) = 1,07 (tubes ordinaires) – 0,07 ng/ml
r = 0,975

Moyennes :
7,96 ng/ml (Sérum)
7,46 ng/ml (Héparine)
7,50 ng/ml (EDTA)
8,48 ng/ml (SST)

Comparaison de méthodes 1 : le test a été comparé à l'IMMULITE Digitoxine de DPC sur 86 échantillons (intervalle de concentrations : 7 à 57 ng/ml environ. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 0,4 ng/ml
r = 0,98

Moyennes :
24,0 ng/ml (IMMULITE 2000)
25,1 ng/ml (IMMULITE)

Comparaison de méthodes 2 : Le test a été comparé au test Coat-A-Count Digitoxine de DPC sur 89 échantillons dont les concentrations allaient d'environ 5 à 55 ng/ml. Voir graphique.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 1,04 (Coat-A-Count) – 1,1 ng/ml
r = 0,98

Moyennes :
24,2 ng/ml (IMMULITE 2000)
24,1 ng/ml (Coat-A-Count)

Assistance technique

Contacter votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un Système Qualité enregistré sous ISO 13485:2003.

Italiano

IMMULITE 2000 Digitossina

Uso: Per dosaggi diagnostici in vitro con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa della digitossina nel siero, quale ausilio nella somministrazione terapeutica di questo cardioglicoside.

Codice: **L2KDG2** (200 test),
L2KDG6 (600 test)

Codice del Test: **DGT** Colore: **Rosso**

Riassunto e Spiegazione del Test

La Digitossina è un glicoside cardiaco ad azione estesa utilizzato nel trattamento del collasso congestizio del cuore ed in alcune aritmie. E' strutturalmente identico alla digossina eccetto che per l'assenza di un gruppo idrossile individuale. Essendo meno polare, la Digitossina viene assorbita in maniera più completa, e circola di più legata alle proteine. Viene metabolizzata estensivamente nel fegato, in forma attiva ed inattiva. La Digitossina ha un'emivita comparativamente estesa di 5–7 giorni ed, eccetto nella sindrome nefrotica, non viene influenzata dalla disfunzione renale.

Un picco transitorio è associato alla fase di distribuzione; in seguito, il livello circolante declina costantemente ed in modo molto graduale. Per questo motivo, i campioni di sangue per l'analisi della Digitossina dovrebbero essere prelevati prima della dose successiva — o in ogni caso non meno di 6 ore dopo la dose precedente — per consentire che i livelli del plasma e dei tessuti si riequilibrino.

Le determinazioni del siero possono aiutare nella verifica della conformità e nella regolazione della dose per raggiungere la concentrazione di plasma

desiderata. Il controllo dei livelli circolanti di Digitossina è particolarmente importante quando ci sono complicazioni enteroepatiche o renali, e durante la terapia concomitante con farmaci come la chinidina, che può influenzare le farmacocinetiche della Digitossina.

Occorre tenere presente che il rapporto tra livello circolante e risposta clinica varia molto da individuo ad individuo, a causa di molti fattori. Questo fatto è dimostrato dalla sovrapposizione considerevole tra range terapeutici e tossici riassunti in letteratura.

Per questo motivo, si osservano livelli circolanti di circa 10–25 ng/mL nella maggior parte dei pazienti che mostrano una risposta terapeutica soddisfacente alla Digitossina, mentre i livelli superiori a 45 ng/mL sono tipici di pazienti con sintomi di intossicazione da Digitossina.^{2,4,16} Concentrazioni superiori al range terapeutico convenzionale possono essere richieste per controllare alcune aritmie. D'altro canto, i livelli circolanti molto inferiori a 45 ng/mL possono causare sintomi di intossicazione in pazienti resi più sensibili all'azione del farmaco da un livello di potassio diminuito. Nonostante questo, più è elevato il livello circolante, più probabile è che i sintomi clinici di intossicazione possano essere attribuiti al farmaco — e viceversa.

Le determinazioni del siero devono supportare il giudizio clinico; non lo devono sostituire. Un valore isolato non dovrebbe essere utilizzato come unico criterio per la valutazione dell'efficacia o della tossicità; ma, dovrebbe essere interpretato nel contesto globale dello studio clinico.

Principio del Dosaggio

L'IMMULITE 2000 Digitossina è un dosaggio immunoenzimatico in fase solida, in chemiluminescenza

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

Prelevare il sangue in provette semplici (senza anticoagulanti) o in provette eparinizzate, e separare il siero dalle cellule. Occorre annotare l'ora del prelievo.

Per evitare risultati erroneamente elevati di Digitossina, i campioni dei pazienti devono essere prelevati poco prima della dose successiva — o in ogni caso non meno di sei ore dopo la somministrazione di questo glicoside cardiaco.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE 2000 Digitossina non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante i Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume Richiesto: 10 µL siero.

Conservazione: 7 giorni a 2–8°C o 2 mesi a –20°C.

Avvertenze e precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni universali, e manipolare tutti i componenti come se potessero trasmettere agenti infettivi. Sono stati dosati i materiali di origine umana e sono stati trovati non reattivi per la Sifilide; per gli Anticorpi Anti-HIV 1 e 2; per l'Antigene di Superficie dell'Epatite B; e per gli Anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua

per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Substrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica).

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

Contenitore di Sferette Digitossina (L2DG12)

Con codice a barre. 200 sfere coattate con un anticorpo policlonale di coniglio anti-Digitossina. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KDG2: 1 Confezione.

L2KDG6: 3 Confezioni.

Porta Reagente Digitossina (L2DGA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con Digitossina in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KDG2: 1 Porta Reagente.

L2KDG6: 3 Porta Reagenti.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

Calibratori Digitossina (LDGL, LDGH)

Due flaconi (Basso ed Alto), 4 mL ciascuno, di Digitossina in siero umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KDG2: 1 set. **L2KDG6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette delle aliquote cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

Componenti del kit forniti separatamente

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di Lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago
LRXT: Tubi di Reazione (monouso)
SDCM: Controllo bi-livello, multicomposto

Materiali richiesti
Acqua distillata o deionizzata; Provette;
controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definite nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

Vedi Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizione, calibrazione, dosaggio e procedure di controllo di qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato:
2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di Digitossina.

Range Terapeutico

I risultati seguenti sono presenti in letteratura per i livelli terapeutici e tossici di Digitossina in circolo.¹⁶

	ng/mL	nmol/L
Range terapeutico	10–25	13–33
Livello di tossicità	>45	>59

Considerare questi limiti *soltanto come linee guida*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

Limiti

Molti fattori fisiologici, farmacologici, patologici e genetici possono influenzare l'interpretazione dei risultati (vedi sezione Riassunto e Spiegazione).

Nei casi di sovradosaggio, i campioni devono essere ottenuti *prima* di somministrare l'antidoto immuno Fab della Digitossina (p.e. Digibind®), poiché è probabile che questi interferiscano con il dosaggio della Digitossina. Dopo la somministrazione del preparato, è possibile eseguire determinazioni accurate della Digitossina soltanto mediante tecniche specializzate (non comunemente disponibili in molti centri clinici). I frammenti Fab sono stati eliminati dal

corpo; questo processo richiede alcuni giorni con una funzione renale intatta, ed una settimana o più per pazienti con disfunzioni renali. Oltre agli effetti *in vitro*, questi preparati, somministrati per via endovenosa, causano un aumento rapido nei livelli di Digitossina circolante farmacologicamente inattiva Fab legata che può essere individuata immunologicamente.¹⁵

La presenza di Uzara® nel siero dei pazienti può risultare in risultati di digitossina falsamente elevati.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi *in vitro*. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti con questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle e grafici per dati *rappresentativi* delle prestazioni del dosaggio. I risultati sono espressi in ng/mL. (Se non diversamente annotato, tutti i risultati sono stati generati da campioni di siero prelevati in provette senza barriere di gel o additivi che favoriscano la coagulazione.)

Fattore di Conversione:
ng/mL × 1,307 → nmol/L

Range di calibrazione: 5 – 60 ng/mL
(6,5 – 78 nmol/L),

Sensibilità analitica: 1 ng/mL
(1,3 nmol/L)

Precisione: Sono stati dosati campioni in duplicato nel corso di diversi giorni per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati dosati a varie diluizioni. (Vedi tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1 :19 con tre soluzioni di Digitossina (193, 385 e 770 ng/mL). (Vedi tabella "Recovery" per dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per la digitossina. (Vedi tabella "Specificity".)

Bilirubina: La presenza di bilirubina coniugata e non coniugata in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto entro il range di precisione del dosaggio.

Emolisi: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 600 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Lipemia: La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Tipo di Campione Alternativo: Per determinare l'effetto di campioni alternativi, è stato prelevato del sangue da 20 volontari in provette di plastica semplici, eparinizzate, EDTA e Becton Dickinson vacutainer SST®. Ad eguali volumi di campioni misti sono state aggiunte varie concentrazioni di Digitossina per ottenere valori lungo l'intero range di calibrazione del dosaggio e quindi dosati con il kit IMMULITE 2000 Digitossina.

(Eparina) = 0,90 (Siero) + 0,26 ng/mL
r = 0,987

(EDTA) = 0,89 (Siero) + 0,39 ng/mL
r = 0,973

(SST) = 1,07 (provette semplici) – 0,07 ng/mL
r = 0,975

Valore medio:
7,96 ng/mL (Siero)
7,46 ng/mL (Eparina)
7,50 ng/mL (EDTA)
8,48 ng/mL (SST)

Comparazione di metodi 1: L Il dosaggio è stato comparato al Dosaggio IMMULITE Digitossina della DPC in 86 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 7 fino a 57 ng/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 0,4 ng/mL
r = 0,98

Valore medio:
24,0 ng/mL (IMMULITE 2000)
25,1 ng/mL (IMMULITE)

Comparazione di metodi 2: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio DPC Digitossina Coat-A-Count in 89 campioni dei pazienti. (Range di concentrazione: da 5 fino a 55 ng/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML 2000) = 1,04 (Coat-A-Count) – 1,1 ng/mL
r = 0,98

Valore medio:
24,2 ng/mL (IMMULITE 2000)
24,1 ng/mL (Coat-A-Count)

Assistenza tecnica

All'Estero: Contattare il Proprio Distributore Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

Português

IMMULITE 2000 Digitoxina

Utilização: Para o doseamento quantitativo diagnóstico *in vitro* da digitoxina no soro, em conjunto com o analisador IMMULITE 2000 como auxílio na administração terapêutica deste cardioglicosídeo.

Números de catálogo:
L2KDG2 (200 testes),
L2KDG6 (600 testes)

Código do teste: **DGT** Cor: **Vermelho**

Sumário e explicação do teste

A digitoxina é um glicosídeo cardíaco de actuação longa usado no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva e certas arritmias. A sua estrutura é idêntica à da digoxina excepto pela ausência de um único grupo de hidroxilos. Por ser menos polar, a digitoxina é absorvida mais completamente, e circula na sua maioria, ligada a proteínas. É metabolizada, extensivamente, no fígado para a forma activa e inactiva. A digitoxina possui um tempo de meia-vida comparativamente longo, de 5 a 7 dias e, excepto no síndrome nefrótico, em grande parte não é afectada pela disfunção renal.

Um pico transitório está associado com a fase de distribuição; daí em diante o nível de circulação exhibe um declínio muito gradual e constante. Desta forma, as amostras de sangue para análise de digitoxina devem ser colhidas logo antes da próxima dose — ou nunca menos de 6 horas após a dose anterior — para permitir o tempo necessário para os níveis de plasma e tecido atingirem o equilíbrio.

As determinações no soro podem auxiliar na verificação de conformidade e no ajuste da dose para alcançar uma concentração de plasma desejada. A monitorização dos níveis de digitoxina circulante é especialmente valiosa quando houver complicações renais ou enteroepáticas e durante terapia simultânea com drogas como quinidina, que podem afectar a farmacocinética da digitoxina.

É importante lembrar, no entanto, que a relação entre os níveis circulantes e a resposta clínica varia enormemente de um indivíduo para outro, devido aos vários factores em actuação. Isto é reflectido na sobreposição considerável entre valores terapêuticos e tóxicos, resumidos na literatura.

Desta forma, os níveis circulantes de aproximadamente 10 a 25 ng/mL são observados na maioria dos doentes que apresentam uma resposta terapêutica satisfatória à digitoxina, enquanto níveis superiores a 45 ng/mL são típicos em doentes com sintomas de toxicidade por digitoxina.^{2,4,16} Contudo, concentrações superiores aos valores terapêuticos convencionais podem ser necessárias para controlar certas arritmias. Por outro lado, níveis circulantes inferiores a 45 ng/mL podem causar sintomas de toxicidade em doentes com maior sensibilidade à acção da droga devido a, por exemplo, um nível reduzido de potássio. Apesar disso, o mais provável é que os sintomas clínicos de toxicidade possam ser atribuídos à droga — e quanto mais baixo o nível, menor a possibilidade.

As determinações no soro devem complementar o julgamento clínico, e não substituí-lo. Não deve ser usado um valor isolado como único critério para a avaliação de eficiência ou toxicidade; ao

contrário, deve sempre ser interpretado dentro do contexto clínico total.

Princípio do Procedimento

IMMULITE 2000 Digitoxina é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas químico-luminosas.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos.

Colheita

Recolha o sangue em tubos simples (sem anti-coagulante) ou heparinizados, e separe o soro das células. A hora da colheita deve ser anotada.

Para evitar resultados enganosamente altos de digitoxina, as amostras devem ser colhidas logo antes da próxima dose — ou nunca menos de 6 horas após administração deste glicosídeo cardíaco.

Recomenda-se o uso de uma ultra centrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto de uma amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes. IMMULITE 2000 Digitoxina não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

Volume de Amostra: 10 µL de soro.

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Eliminar de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

Substrato quimioluminescente: Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula do substrato).

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais Fornecidos

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

Embalagem de pérolas de Digitoxina (L2DG12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo policlonal de coelho de digitoxina. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KDG2: 1 embalagem pack.

L2KDG6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de Digitoxina (L2DGA2)

Com código de barras. 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com digitoxina tamponizada. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KDG2: 1 embalagem.

L2KDG6: 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a etiqueta de protecção da tampa deslizante; levante a tampa, remova o remanescente da etiqueta com o cuidado de não danificar o

código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, encaixe a tampa deslizante nas ranhuras e verifique se a tampa desliza.

Ajustes de Digitoxina (LDGL, LDGH)

Dois frascos (nível alto e baixo), de 4 mL cada, de digitoxina em soro humano, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KDG2: 1 conjunto.

L2KDG6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") nos tubos de amostra de forma a que os códigos de barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quimioluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

SDCM: Controlo multiparamétrico de dois níveis

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Consulte o Manual do Operador de IMMULITE 2000 para para instruções sobre preparação, diluição, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:

utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de digitoxina.

Valor Terapêutico

Os seguintes resultados encontram-se apresentados na literatura para níveis

circulantes tóxicos e terapêuticos de digitoxina.¹⁶

	ng/mL	nmol/L
Valor terapêutico	10–25	13–33
Nível tóxico	>45	>59

Considere estes limites *apenas como diretrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

Limitações

Vários factores fisiológicos, farmacológicos, patológicos e genéticos podem afectar a interpretação dos resultados (veja a secção de Sumário e Explicação).

Em casos de dosagem excessiva, as amostras devem ser obtidas *antes* da administração de preparações de antídoto imunológico Fab de digoxina (por exemplo, Digibind[®]) já que se espera que estes interfiram com qualquer procedimento de imunoensaio de digitoxina. Assim que tal preparação for administrada, determinações exactas de digitoxina podem ser feitas apenas por técnicas especializadas (que não estão habitualmente disponíveis na maioria das clínicas) até os fragmentos de Fab serem eliminados do corpo: este processo demora vários dias para doentes com a função renal intacta, e uma semana ou mais para doentes com deterioração renal. Além dos efeitos *in vitro*, estas preparações, administradas intravenosamente, causam uma elevação rápida na digitoxina total, ligada a Fab, farmacologicamente inactiva, que pode ser detectada imunologicamente.¹⁵

A presença de Uzara[®] no soro de pacientes pode dar origem a resultados falsamente elevados de digitoxina.

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoensaios *in vitro*. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de

resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interacções entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Consulte Tabelas e Gráficos para dados *representativos* do desempenho do doseamento. Os resultados são apresentados em ng/mL. (Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

Factor de conversão:

ng/mL × 1,307 → nmol/L

Calibração:

5 – 60 ng/mL

(6,5 – 78 nmol/L),

Sensibilidade Analítica:

1 ng/mL

(1,3 nmol/L)

Precisão: amostras foram ensaiadas em duplicado durante vários dias num total de 40 ensaios e 80 duplicados. (Consulte a tabela "Precision".)

Linearidade: As amostras foram doseadas sob várias diluições. (Consulte a tabela "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções de digitoxina (193, 385 e 770 ng/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para digitoxina. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirrubina conjugada e não conjugada em concentrações até 200 mg/L não tem efeito no procedimento dentro da precisão do ensaio.

Hemólise: A presença de hemoglobina em concentrações até 600 mg/dL não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de triglicéridos em concentrações até 3 000 mg/dL não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

Tipo de amostra alternativa: Para determinar o efeito de amostras alternativas, foi colhido sangue de 20 voluntários em tubos de plástico secos, com EDTA, heparinizados e tubos de vácuo SST® da Becton Dickinson. A volumes iguais das mesmas amostras foram adicionadas várias concentrações de Digitoxina para obter valores ao longo da gama de calibração do ensaio. As amostras foram doseadas com o IMMULITE 2000 Digitoxina.

(Heparina) = 0,90 (Soro) + 0,26 ng/mL
r = 0,987

(EDTA) = 0,89 (Soro) + 0,39 ng/mL
r = 0,973

(SST) = 1,07 (tubos simples) – 0,07 ng/mL
r = 0,975

Médias:

7,96 ng/mL (Soro)
7,46 ng/mL (Heparina)
7,50 ng/mL (EDTA)
8,48 ng/mL (SST)

Comparação de Métodos 1: O doseamento foi comparado ao Digitoxina IMMULITE da DPC em 86 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente: 7 – 57 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,97 (IML) – 0,4 ng/mL
r = 0,98

Médias:

24,0 ng/mL (IMMULITE 2000)
25,1 ng/mL (IMMULITE)

Comparação de Métodos 2: O doseamento foi comparado ao kit da DPC de Digitoxina Coat-A-Count em 89 amostras. (Zona de trabalho: aproximadamente: 5 – 55 ng/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 1,04 (Coat-A-Count) – 1,1 ng/mL
r = 0,98

Médias:

24,2 ng/mL (IMMULITE 2000)
24,1 ng/mL (Coat-A-Count)

Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

EURO/DPC LTD
Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®
Diagnostic Products Corporation
Corporate Offices
5210 Pacific Concourse Drive
Los Angeles, CA 90045-6900
USA

2005-03-04

PIL2KDG – 4



EC REP DPC Biermann GmbH
61231 Bad Nauheim
Germany
+49 -6032-994-00