

**IVD** In Vitro Diagnosticum

Rx Only

**REF** 100004 (17 mL, 13 mL Kit)

## Anwendungsbereich

Beim CEDIA™ Digitoxin Assay handelt es sich um einen In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von Digitoxin in Humanserum.

## Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Digitoxin ist ein natürlich vorkommendes Herzglykosid und wird zur Behandlung der dekompensierten Rechtsherzinsuffizienz und des Vorhofflimmerns eingesetzt. Die wesentliche pharmakodynamische Eigenschaft aus therapeutischer Sicht liegt in der gesteigerten Kraft der Myokardkontraktionen. Desweiteren ist bekannt, dass Digitoxin beim Vorhofflimmern die Kammerfrequenz senkt.

Laut Studien lässt sich bei bis zu 23% aller stationär behandelten Patienten ein gewisses Maß an Toxizität nachweisen, und gegenüber den nichttoxischen Patienten lag die Mortalität bei den toxischen Patienten mehr als doppelt so hoch.<sup>1</sup> Allerdings reagieren die einzelnen Patienten, hinsichtlich der Frage, ob der Spiegel noch wirksam oder bereits toxisch ist, äußerst unterschiedlich.

Wie bei den meisten Medikamenten sollte der Digitoxinserumspiegel nicht isoliert, sondern in Zusammenhang mit anderen klinischen Befunden gesehen werden, damit der behandelnde Arzt die Dosierung so anpassen kann, dass sich eine optimale therapeutische Wirkung einstellt und weder subtherapeutische noch gefährliche toxische Spiegel vorliegen.

Der CEDIA Digitoxin-Assay stützt sich auf rekombinante DNA-Technologie (US-Patentnr. 4708929), die ein besonders homogenes Enzym-Immunoassaysystem liefert.<sup>2</sup>

Der Assay beruht auf dem bakteriellen Enzym  $\beta$ -Galaktosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente zerlegt wurde, den Enzym-Akzeptor (EA) und den Enzym-Donor (ED). Diese Fragmente verbinden sich spontan wieder unter Bildung des aktiven Enzyms, das bei der Durchführung des Tests ein Substrat spaltet und damit eine spektrophotometrisch messbare Farbänderung hervorruft.

Im Assay konkurriert die Substanz in der Probe mit dem inaktiven und an Digitoxin gebundenen ED-Fragment der  $\beta$ -Galaktosidase um die Antikörper-Bindungsstellen. In der Probe enthaltenes Digitoxin bindet an digitoxinspezifische Antikörper, wodurch sich die inaktiven ED-Fragmente wieder mit den EA-Fragmenten zu aktivem Enzym verbinden können. Enthält die Probe kein Digitoxin, bindet der Antikörper an das digitoxinkonjugierte inaktive ED-Fragment, was die erneute Verbindung des ED-Fragments mit dem EA-Fragment verhindert. Daher wird kein aktives Enzym gebildet. Die Digitoxinkonzentration der Probe ist direkt proportional zur Menge des neu gebildeten aktiven Enzyms, was über die Hydrolyse von Chlorphenolrot- $\beta$ -D-Galaktopyranosid gemessen wird.

## Reagenzien

- EA-Rekonstitutionspuffer:** Enthält HEPES-Puffer, Stabilisator und Konservierungsmittel (17 mL).
- 1a EA-Reagens:** Enthält 0,28 g/L Enzym-Akzeptor und 8 mg/L Antidigitoxin-Antikörper vom Schaf.
- 2 ED-Rekonstitutionspuffer:** Enthält HEPES-Puffer.
- 2a ED-Reagens:** Enthält 3,12  $\mu$ g/L an Digitoxin konjugierten Enzym-Donor, 2,21 g/L CPR- $\beta$ -D-Galaktopyranosid, 0,8 g/L Antischaf-Antikörper vom Esel.
- 3 Low-Kalibrator:** Enthält normales Humanserum (2 mL).
- 4 High-Kalibrator:** Enthält Digitoxin in normalem Humanserum (2 mL).

## Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen

**GEFAHR:** Digitoxin Pulverreagenzien enthalten  $\leq 31$  % Rinderserumalbumin (BSA),  $\leq 19$  % Natriumphosphat, dibasisch, wasserfrei,  $\leq 12$  % Natriumphosphat, monobasisch,  $\leq 10$  % Eselserum,  $\leq 1,0$  % Natriumazid und  $\leq 9$  % wirkstoffspezifische Antikörper (Schaf). Digitoxin Flüssigreagenzien enthalten  $\leq 3$  % Ethylenglycol,  $\leq 0,2$  % Natriumazid und  $\leq 0,1$  % Natriumlauroylsarcosinat. Digitoxin Kontrollen enthalten  $\leq 97$  % Humanmaterial und  $\leq 1,3$  % Natriumazid.

H302 – Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

H315 – Verursacht Hautreizungen.

H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H319 – Verursacht schwere Augenreizung.

H334 – Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

H412 – Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

EUH032 – Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. Bei Gebrauch dieses Produkts nicht essen, trinken oder rauchen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Nach Gebrauch Hände gründlich waschen. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. **BEI EINATMEN:** Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. **BEI VERSCHLUCKEN:** Bei Unwohlsein Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Mund ausspülen. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zu führen.

Die Reagenzien enthalten Natriumazid. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt die betroffenen Stellen mit reichlich Wasser abspülen. Bei Kontakt mit Augen oder Verschlucken sofort einen Arzt aufsuchen. Natriumazid kann mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und potenziell explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung dieser Reagenzien immer mit viel Wasser nachspülen, um eine Ansammlung von Aziden zu verhindern. Exponierte Metalloberflächen mit 10% Natriumhydroxid reinigen.

Die Substanzen humanen Ursprungs im Produkt wurden auf HIV 1 und 2 sowie Hepatitis B und C getestet. Die Ergebnisse waren negativ. Da kein Testverfahren das Risiko einer möglichen Infektion mit absoluter Sicherheit ausschließen kann, sind die Materialien mit Vorsicht zu behandeln. Sie bergen das Risiko einer Infektion in sich.

## Vorbereitung und Aufbewahrung der Reagenzien

Das Kit unmittelbar vor Herstellung der Lösungen aus dem Kühlschrank nehmen.

Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, sollten die Lösungen in folgender Reihenfolge zubereitet werden.

**R2 - Enzym-Spender-Lösung:** Fläschchen 2a (ED-Reagens) mit Fläschchen 2 (ED-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 2a in Fläschchen 2 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und wegwerfen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 10 Minuten bei Raumtemperatur (15-25°C) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen direkt in das Reagenzienfach des Analysegerätes oder in den Kühlschrank stellen und vor Verwendung 90 Minuten stehen lassen.

**R1 - Enzym-Akzeptor-Lösung:** Fläschchen 1a (EA-Reagens) mit Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 1a in Fläschchen 1 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 1a und Adapter von Fläschchen 1 abnehmen und wegwerfen. Fläschchen 1 verschließen und ca. 10 Minuten bei Raumtemperatur (15-25°C) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen direkt in das Reagenzienfach des Analysegerätes oder in den Kühlschrank stellen und vor Verwendung 90 Minuten stehen lassen.

**Kalibratoren. Gebrauchsfertig.** Vor Verwendung durch vorsichtiges Umdrehen mischen. Schaumbildung vermeiden.

**HINWEIS 1:** Die Komponenten dieses Kits sind zum Gebrauch als eine Einheit vorgesehen. Komponenten verschiedener Chargen nicht mischen.

**HINWEIS 2:** Auf mögliche Kreuzkontamination von Reagenzien durch Verwechslung der Fläschchenstüpsel achten. Die Arbeitslösung R2 (Enzym-Donor) sollte gelb-orange aussehen. Ein rotes bzw. purpurrotes Reagens ist kontaminiert und muss verworfen werden.

**HINWEIS 3:** Die R1- und R2-Lösung muss vor Durchführung des Assays die Temperatur des Reagenzienfachs im Analysegerät erreichen.

**HINWEIS 4:** Vor längerer starker Lichteinwirkung schützen, um die Stabilität der rekonstituierten EA-Lösung zu gewährleisten.

Die Reagenzien bei 2-8°C aufbewahren. **NICHT EINFRIEREN.** Die Stabilität der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf den Etiketten der Verpackung und Fläschchen zu entnehmen.

**R1-Lösung:** 30 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8°C.

**R2-Lösung:** 30 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8°C.

**Kalibratoren:** Bei 2-8°C bis zum Verfallsdatum.

Falls Materialien versehentlich verschüttet werden, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.

Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe Rückseite dieser Packungsbeilage).

## Probenentnahme und -handhabung

Serum- oder Plasmaproben (K-Heparin, Na-Heparin, Li-Heparin und EDTA) sind für die Verwendung im Assay geeignet. Jegliche Schaumbildung sowie wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermeiden, um die Unversehrtheit der Probe zum Zeitpunkt der Entnahme bis zur Durchführung des Tests zu gewährleisten. Proben, die Partikel enthalten, zentrifugieren. Die Proben verschließen, bei 2 bis 8 °C lagern und innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme testen. Wenn der Assay nicht innerhalb von 24 Stunden durchgeführt werden kann oder die Probe versandt werden muss, die Probe verschließen und eingefroren lassen. Die Proben können bei -20 °C bis zu 3 Monate aufbewahrt werden. **Alle Patientenproben sind wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.**

## Durchführung des Assays

Zur Durchführung dieses Assays können Geräte für chemische Analysen verwendet werden, bei denen die Temperatur konstant gehalten wird und mit denen Proben pipettiert, Reagenzien gemischt, die Geschwindigkeit von Enzymreaktionen gemessen und die Reaktionszeit genau bestimmt werden kann. Applikationsblätter mit spezifischen Instrumentparametern können von Microgenics angefordert werden.

**HINWEIS:** Falls das Analysegerät den Strichcode nicht erfasst, lässt sich die Ziffernfolge auf dem Strichcode-Etikett über die Tastatur eingeben.

## Qualitätskontrolle und Kalibrierung<sup>3</sup>

Es wird eine Zweipunkt-Kalibrierung empfohlen.

- Als Nullkalibrierung alle 24 Stunden
- Nach jedem Reagensfläschchenwechsel
- Bei jeder neuen Reagens-Charge
- Wie erforderlich nach Qualitätskontrollmaßnahmen

Gute Laborpraxis verlangt, dass jeden Tag, an dem Patientenproben gemessen werden, sowie nach jeder Kalibrierung mindestens zwei Qualitätskontrollspiegel (unterer und oberer medizinischer Entscheidungspunkt) zu bestimmen sind. Die Kontrollwerte auf mögliche Trends oder Verschiebungen überprüfen. Falls Trends oder Verschiebungen vorliegen oder die Wiederfindung der Kontrolle nicht innerhalb des vorgeschriebenen Bereichs liegt, sind alle Betriebsparameter zu überprüfen. Weitere Hilfe können Sie vom Kundendienst erhalten. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

#### Einschränkungen

- Bei Patienten, die wegen Durchfall mit Uzara® behandelt werden, kann es zu falsch hohen Digitoxinwerten kommen.
- Die Inzidenz von Patienten mit Antikörpern gegen E. coli β-Galaktosidase ist extrem niedrig. Allerdings kann es bei einigen Proben mit diesen Antikörpern zu artifiziell hohen Digitoxinspiegeln kommen, die aber nicht mit dem klinischen Bild übereinstimmen.

#### Ergebnisse und erwartete Werte

Der CEDIA Digitoxin-Assay ist für die quantitative Bestimmung von Patientenproben mit einer Digitoxinkonzentration zwischen 3 ng/mL und 50 ng/mL konzipiert. Das Ergebnis für Proben mit einem Spiegel unter 3 ng/mL sollte als < 3 ng/mL ausgegeben werden. Proben mit einem Spiegel über 50 ng/mL werden entweder als > 50 ng/mL ausgegeben oder im Verhältnis 1:1 mit einer digitoxinfreien Probe verdünnt und dann erneut bestimmt. Der bei der Wiederholungsmessung erhaltene Wert leitet sich folgendermaßen ab:

$$\text{Tatsächlicher Wert} = 2 \times \text{Verdünnungswert}$$

Mit dem folgenden Umrechnungsfaktor lassen sich ng/ml in nmol/L umrechnen:

$$\begin{aligned} \text{ng/mL} \times 1,3 &= \text{nmol/L} \\ \text{nmol/L} \times 0,77 &= \text{ng/mL} \end{aligned}$$

Bei vielen Patienten liegt der therapeutische Bereich für Digitoxin bei 25 bis 30 ng/mL.<sup>4</sup> Umgekehrt gelten Digitoxinserumspiegel von mehr als 30 ng/mL meist als toxisch. Doch kann es auch bei niedrigeren Spiegeln zur Toxizität kommen.<sup>5</sup> Aus diagnostischer Sicht muss der Digitoxinspiegel daher stets im Zusammenhang mit der Anamnese, dem klinischen Bild und weiteren Befunden interpretiert werden.

#### Spezifische Leistungsdaten

Die nachstehenden spezifischen Leistungsdaten wurden auf einem Hitachi-Gerät ermittelt.<sup>6</sup> Die im einzelnen Labor erhaltenen Ergebnisse können davon abweichen.

#### Präzision

Die Reproduzierbarkeit wurde anhand von Kontrollen in einem internen Protokoll bestimmt.

Probe	In der serie (n = 20)			Tag/Tag (n = 17)		
	Mean ng/mL	SD ng/mL	% CV	Mean ng/mL	SD ng/mL	% CV
Kontrolle 1	10,07	0,70	6,95	9,48	1,12	11,81
Kontrolle 2	16,66	0,66	3,96	18,21	1,60	8,79
Kontrolle 3	44,02	0,85	1,93	45,46	1,39	3,06

#### Methodenvergleich

Bei einem Vergleich des CEDIA Digitoxin-Assays (y) mit einem handelsüblichen Radioimmunoassay (x) ergab sich die folgenden Korrelation (ng/ml):

#### Lineare Regression

$$\begin{aligned} y &= -0,27 + 0,99x \\ r &= 0,96 \\ \text{SEE} &= 2,67 \end{aligned}$$

Anzahl der gemessenen Proben: 137

Die Konzentration in den Proben lag zwischen 3,1 und 49,0 ng/mL.

#### Linearität

High-Range-Proben wurden mit dem CEDIA Digitoxin Low-Kalibrator verdünnt. Der Quotient aus Messwert und Erwartungswert ergab die Wiederfindungsrate in Prozent.

% High-Range-Probe	Erwartungswert Wert (ng/mL)	Gemessener Wert (ng/mL)	% Wiederfindung
100	-	34,83	100,0
75	26,12	26,93	103,1
50	17,42	18,30	105,1
25	8,71	9,35	107,3

#### Wiederfindung (Recovery)

Einer Low-Range-Patientenprobe wurde Digitoxin hinzugefügt. Der Quotient aus Messwert und Erwartungswert ergab die Wiederfindungsrate in Prozent.

Digitoxin Zugabe (ng/mL)	Erwartungswert Wert (ng/mL)	Gemessener Wert (ng/mL)	% Wiederfindung
0	-	9,03	-
9,57	18,60	19,25	103,5
19,14	28,17	28,39	100,8
28,70	37,73	38,68	103,0

#### Spezifität

Folgende Substanzen wurden auf mögliche Kreuzreaktivität untersucht.

Substanz	% Kreuzreaktivität
Deslanosid	3,8
Digitoxigenin	217,4
Digitoxigenin-bisdigitoxisid	138,9
Digitoxigenin-monodigitoxisid	177,3
Digoxigenin	3,9
Digoxin	5,3
Dihydrodigoxin	< 0,1
Furosemid	< 0,1
Getalin	34,7
Ouabain	1,9
Prednisolon	< 0,1
Prednison	< 0,1
Progesteron	< 0,1
Quinidin (Freie Base)	< 0,1
Quinidin (HCl)	< 0,1
Spironolacton	< 0,1
Testosteron	< 0,1
Theophyllin	< 0,1

Der CEDIA Digitoxin-Assay blieb unbeeinflusst von:

Substanz	Konzentration
Bilirubin	≤ 60 mg/dL
Hämoglobin	≤ 1.000 mg/dL
Triglycerid	≤ 1.000 mg/dL

#### Sensitivität

Die niedrigste vom CEDIA Digitoxin-Assay noch messbare Konzentration beträgt 1,7 ng/mL.

#### Literatur

- Beller GA, Smith TW, Abelmann WH, Haber E, Hood Jr. WB. Digitalis Intoxication, A Prospective Clinical Study with Serum Level Correlations, The New England Journal of Medicine 1971; 284(18): 989-997.
- Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. Clin Chem. 1986; 32(9): 1637-1641.
- Daten über Nachweisbarkeit können bei Microgenics Corporation angefordert werden.
- Smith TW. Radioimmunoassay for Serum Digitoxin Concentration: Methodology and Clinical Experience, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1970;175(2): 352-360.
- Smith TW, and Haber E. The Clinical Value of Serum Digitalis Glycoside Concentrations in the Evaluation of Drug Toxicity, Annals New York Academy of Sciences 1971; 179: 322-337.
- Daten liegen bei Microgenics, teil von Thermo Fisher Scientific.

#### Glossar:

<http://www.thermofisher.com/symbols-glossary>



Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA  
Kundendienst und technischer  
Support für die USA:  
1-800-232-3342



B-R-A-H-M-S GmbH  
Neuendorfstrasse 25  
16761 Hennigsdorf, Germany



Aktualisierte Packungsbeilagen finden Sie unter:  
[www.thermofisher.com/diagnostics](http://www.thermofisher.com/diagnostics)

#### Andere Länder:

Wenden Sie sich bitte an die zuständige Vertretung von Thermo Fisher Scientific.

10003625-10-DE  
2020 06

**thermo**  
scientific