

# Dosaggio CEDIA™ per la digitossina

thermo  
scientific

**IVD** Per uso diagnostico in vitro

Rx Only

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

## Uso previsto

Il dosaggio CEDIA™ per la digitossina è un dispositivo medico-diagnostico in vitro destinato alla determinazione quantitativa della digitossina nel siero umano.

## Sommario e spiegazione del metodo

La digitossina è un glicoside cardiotonico naturale indicato nel trattamento dell'insufficienza cardiaca congestizia e della fibrillazione atriale. Sul piano terapeutico, la principale proprietà farmacodinamica della digitossina è la capacità di aumento della contrattilità del muscolo cardiaco. È inoltre in grado di rallentare la frequenza ventricolare nei casi di fibrillazione atriale.

Dagli studi condotti si evince che fino al 23% di tutti i pazienti ospedalizzati trattati con digitossina ha riscontrato diversi gradi di tossicità, e che il tasso di mortalità tra i pazienti che hanno esibito reazioni tossiche è stato più del doppio rispetto ai pazienti che non hanno dimostrato alcuna reazione tossica. C'è tuttavia un'ampia variabilità di risposta individuale per quanto riguarda l'efficacia o la tossicità della concentrazione del farmaco.

Come per la maggioranza dei farmaci, il monitoraggio dei livelli sierici di digitossina deve essere associato ad altri dati clinici in modo da offrire al medico le informazioni necessarie per assisterlo nella regolazione del dosaggio in base alle esigenze del paziente per ottenere l'effetto terapeutico ottimale, evitando sia le dosi subterapeutiche che le dosi tossiche pericolose.

Il dosaggio CEDIA per la digitossina è un immunodosaggio enzimatico omogeneo che si avvale della tecnologia del DNA ricombinante (brevetto USA n. 4708929).<sup>2</sup>

Il dosaggio è basato sull'enzima batterico  $\beta$ -galattosidasi, geneticamente suddiviso in due frammenti inattivi: l'accettore enzimatico (EA) e il donatore enzimatico (ED). Questi frammenti si riassociano spontaneamente per formare un enzima attivo in grado di legarsi, nel formato del dosaggio, ad un substrato, dando luogo ad una variazione cromatica misurabile spettrofotometricamente.

Nel dosaggio, la digitossina presente nel campione compete con la digitossina coniugata al frammento ED inattivo di  $\beta$ -galattosidasi per i siti di legame anticorpali. Se la digitossina è presente nel campione, si lega agli anticorpi specifici contro la digitossina, lasciando i frammenti ED inattivi liberi di riassociarsi con i frammenti EA per formare l'enzima attivo. Se la digitossina non è presente nel campione, l'anticorpo si lega al frammento ED inattivo coniugato alla digitossina, inibendo la riassociazione del frammento ED con il frammento EA, e la formazione di enzima attivo. Le concentrazioni di digitossina nel campione sono direttamente proporzionali alla quantità di enzima attivo formato, monitorato dall'idrolisi del rosso di clorofenolo- $\beta$ -galattopiranoside.

## Reagenti

- 1 Tampone di ricostituzione per EA:** contiene tampone HEPES, stabilizzante e conservante, (17 mL).
- 1a Reagente EA:** contiene accettore enzimatico, 0,28 g/L; anticorpi (ovini) anti-digitossina: 8 mg/L.
- 2 Tampone di ricostituzione per ED:** contiene tampone HEPES.
- 2a Reagente ED:** contiene donatore enzimatico coniugato con digitossina: 3,12  $\mu$ g/L; CPR- $\beta$ -D-galattopiranoside, 2,21 g/L; anticorpo anti-peccora di asino: 0,8 g/L.
- 3 Calibratore basso:** contiene siero umano normale, (2 mL).
- 4 Calibratore alto:** contiene digitossina in siero umano normale, (2 mL).

## ⚠ Avvertenze e precauzioni

**PERICOLO:** i reagenti in polvere per la digitossina contengono  $\leq$  31% di albumina sierica bovina (BSA),  $\leq$  19% di fosfato di sodio, bibasico, anidro,  $\leq$  12% di fosfato di sodio, monobasico,  $\leq$  10% di siero di asino,  $\leq$  1,0% di sodio azide e  $\leq$  9% di anticorpo specifico del farmaco (pecora). I reagenti liquidi per la digitossina contengono  $\leq$  3% di etilenglicole,  $\leq$  0,2% di sodium azide e  $\leq$  0,1% di sodio laurilsarcosinato. I controlli per la digitossina contengono  $\leq$  97% di materiale di origine umana e  $\leq$  1,3% di sodio azide.

H302 - Nocivo per ingestione.

H315 - Provoca irritazione cutanea.

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

H319 - Provoca grave irritazione oculare.

H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Evitare di respirare la polvere o i vapori. Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso. Non disperdere nell'ambiente. Lavare accuratamente le mani dopo l'uso. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. IN CASO DI INGESTIONE: contattare un centro antiveleni o un medico in presenza di malessere. sciacquare la bocca. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Se si indossano lenti a contatto di facile rimozione, toglierle. Continuare a risciacquare. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Se l'irritazione degli occhi persiste, consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVILENI o un medico. Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

I reagenti contengono azoturo di sodio. Evitarne il contatto con la pelle e le mucose. In caso di contatto, sciacquare le aree interessate con abbondanti quantità di acqua. In caso di contatto con gli occhi o di ingestione, rivolgersi immediatamente a un medico. L'azoturo di sodio può reagire con il rame o il piombo delle tubature di scarico generando azidi metallici potenzialmente esplosivi. Per lo smaltimento dei reagenti, usare abbondanti quantità di acqua per evitare l'accumulo di azidi metallici. Pulire le superfici metalliche esposte con idrossido di sodio al 10%.

⚠ I materiali di origine umana sono stati analizzati per escludere la presenza di infezione da HIV 1 e 2 ed epatite B e C. Le analisi sono risultate negative. Tuttavia, poiché al momento non esistono metodi di analisi in grado di escludere con assoluta certezza il rischio di infezione, i materiali devono essere trattati come se fossero potenzialmente infettivi.

## Preparazione e conservazione dei reagenti

Estrarre il kit dal frigorifero appena prima della preparazione delle soluzioni.

Preparare le soluzioni nel seguente ordine per ridurre al minimo la possibilità di contaminazione.

**Soluzione R2 di donatore enzimatico:** collegare il flacone 2a (reagente per ED) al flacone 2 (tampone di ricostituzione per ED) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a si trasferisca nel flacone 2. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 2a e l'adattatore dal flacone 2 e gettarli. Tappare il flacone 2 e lasciarlo riposare per circa 10 minuti a 15-25°C. Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o nel frigorifero e lasciarlo riposare per 90 minuti prima dell'uso.

**Soluzione R1 di accettore enzimatico:** collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 (tampone di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a si trasferisca nel flacone 1. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 1a e l'adattatore dal flacone 1 e gettarli. Tappare il flacone 1 e lasciarlo riposare per circa 10 minuti a 15-25°C. Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o nel frigorifero e lasciarlo riposare per 90 minuti prima dell'uso.

**Calibratori:** pronti per l'uso. Miscelarli capovolgendoli delicatamente prima dell'uso. Evitare la formazione di schiuma.

**NOTA 1:** i componenti forniti in questo kit sono previsti per l'uso concomitante. Non mescolare tra loro componenti di lotti diversi.

**NOTA 2:** per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, non scambiare tra loro i tappi dei diversi flaconi. La soluzione R2 (donatore enzimatico) deve essere di colore giallo arancio. La comparsa di un colore rosso scuro o rosso porpora indica la contaminazione del reagente, che va quindi eliminato.

**NOTA 3:** prima dell'esecuzione del dosaggio, le soluzioni R1 e R2 vanno portate alla temperatura dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore.

**NOTA 4:** per garantire la stabilità della soluzione EA ricostituita, non esporla per un periodo prolungato all'azione diretta di forti sorgenti luminose.

Conservare i reagenti a 2-8°C. **NON CONGELARLI.** Per il periodo di stabilità dei componenti non aperti, vedere la data di scadenza sulla confezione o sulle etichette dei flaconi.

**Soluzione R1:** 30 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

**Soluzione R2:** 30 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

**Calibratori:** fino alla data di scadenza a 2-8°C.

In caso di fuoriuscite accidentali, pulire e smaltire i materiali in conformità alle SOP del laboratorio e alle normative vigenti.

Se la confezione arriva danneggiata, contattare il rappresentante locale dell'assistenza tecnica (fare riferimento al retro di questo foglietto illustrativo).

## Raccolta e trattamento del campione

Per l'analisi si possono utilizzare campioni di siero o plasma trattati con K eparina, Na eparina, Li eparina o EDTA. Non provocare la formazione di schiuma ed evitare di congelare e scongelare ripetutamente per mantenere l'integrità del campione dal momento in cui viene prelevato fino al momento dell'analisi. Centrifugare i campioni che contengono sostanze particolose. Tappare i campioni, conservare a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C ed eseguire l'analisi entro 24 ore dal prelievo. Se non è possibile eseguire l'analisi entro 24 ore o se il campione deve essere spedito, tappare il campione e conservarlo congelato. I campioni possono essere conservati in modo prolungato a una temperatura di -20°C per una durata massima di 3 mesi. **Trattare tutti i campioni dei pazienti come se fossero potenzialmente infettivi.**

## Procedura di analisi

Ai fini del presente dosaggio è possibile utilizzare gli analizzatori chimici in grado di mantenere una temperatura costante, pipettare i campioni, miscelare i reagenti, misurare i tassi enzimatici e regolare con precisione i tempi di reazione. Fogli delle applicazioni riportanti i parametri specifici per ciascun analizzatore sono disponibili presso la Microgenics.

**NOTA:** se l'analizzatore non riesce a leggere il codice a barre, la sequenza numerica dell'etichetta con codice a barre può essere immessa manualmente dalla tastiera.

## Controllo di qualità e calibrazione<sup>3</sup>

Si consiglia di eseguire la calibrazione a due punti

- come calibrazione dei bianchi ogni 24 ore
- prima di usare nuovi flaconi di reagenti
- prima di usare un nuovo lotto di reagenti
- come necessario, in ottemperanza alle procedure di controllo della qualità.

Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi di almeno due livelli (punti di decisione medici alto e basso) di controllo della qualità ogni giorno in cui si esegue l'analisi dei campioni dei pazienti e ad ogni calibrazione. Monitorare i valori di controllo per individuare eventuali tendenze o deviazioni. Se si individuano tendenze o deviazioni, o se il controllo non recupera una quantità di farmaco entro il range specificato, esaminare tutti i parametri operativi. Per ulteriore assistenza, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica. Tutti i requisiti di controllo della qualità vanno soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

#### Limitazioni

1. I campioni prelevati da pazienti a cui è stato somministrato Uzara® per il trattamento della diarrea possono dare risultati falsamente elevati.
2. L'incidenza di pazienti con anticorpi all'E. coli β-galattosidasi è estremamente bassa. Tuttavia, alcuni campioni che contengono questi anticorpi possono dare risultati artificialmente elevati che non rientrano nel profilo clinico.

#### Risultati e valori attesi

Il dosaggio CEDIA per la digitossina è indicato per la quantificazione di campioni di pazienti con concentrazioni comprese tra 3 ng/mL e 50 ng/mL. I campioni con valori inferiori a 3 ng/mL devono essere riportati come < 3 ng/mL. I campioni con quantificazione superiore a 50 ng/mL possono essere riportati come > 50 ng/mL; in alternativa, diluire una parte di campione originale con una parte di campione privo di digitossina e rianalizzarlo. Il valore ottenuto da questa nuova analisi deve essere derivato secondo la formula seguente:

$$\text{Valore effettivo} = 2 \times \text{valore campione diluito}$$

Utilizzare il seguente fattore di conversione per convertire ng/ml in nmol/L:

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

In molti pazienti l'efficacia terapeutica si ottiene solo a concentrazioni di digitossina pari a 25 o 30 ng/mL.<sup>4</sup> Al contrario, livelli di digitossina sierica superiori a 30 ng/mL sono normalmente considerati tossici. Si può tuttavia riscontrare tossicità anche a livelli più bassi.<sup>5</sup> Pertanto, ai fini diagnostici, i risultati del dosaggio della digitossina devono essere sempre valutati insieme all'anamnesi, agli esami clinici e ad altri reperti del paziente.

#### Caratteristiche specifiche del rendimento del test

Le seguenti caratteristiche specifiche del rendimento del test sono state determinate impiegando un sistema Hitachi.<sup>6</sup> I risultati ottenuti da ciascun laboratorio potrebbero discostarsi da quelli qui riportati.

#### Precisione

La riproducibilità è stata determinata mediante l'impiego di controlli in un protocollo interno.

Campione	Prec. nella serie (n = 20)			Giorno/giorno (n = 17)		
	Mean ng/mL	SD ng/mL	% CV	Mean ng/mL	SD ng/mL	% CV
Controllo 1	10,07	0,70	6,95	9,48	1,12	11,81
Controllo 2	16,66	0,66	3,96	18,21	1,60	8,79
Controllo 3	44,02	0,85	1,93	45,46	1,39	3,06

#### Confronto tra metodi

Un confronto tra il dosaggio CEDIA per la digitossina (y) e un dosaggio radioimmunologico disponibile in commercio (x) ha fornito la seguente correlazione (ng/mL):

#### Regressione lineare

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

Numero di campioni misurati: 137

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 3,1 e 49,0 ng/mL.

#### Linearità

Un campione alto è stato diluito con il calibratore basso CEDIA per la digitossina. La percentuale di recupero è stata poi determinata dividendo il valore osservato per il valore atteso.

% Campione Alto	Valore Atteso (ng/mL)	Valore Analizzato (ng/mL)	% Recupero
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

#### Recupero

Ad un campione di paziente basso è stata aggiunta digitossina. La percentuale di recupero è stata poi determinata dividendo il valore osservato per il valore atteso.

Digitossina aggiunta (ng/mL)	Valore Atteso (ng/mL)	Valore Analizzato (ng/mL)	% Recupero
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

#### Specificità

I seguenti composti sono stati analizzati per rilevare l'eventuale reattività crociata.

Composé	% de Réactivité Croisée
Deslanosid	3,8
Digitoxigénine	217,4
Digitoxigénine-bis-digitoxiside	138,9
Digitoxigénine-mono-digitoxiside	177,3
Digoxigénine	3,9
Digoxine	5,3
Dihydrodigoxine	< 0,1
Furosémide	< 0,1
Gitaline	34,7
Ouabaïne	1,9
Prédnisolone	< 0,1
Prédnisone	< 0,1
Progesterone	< 0,1
Quinidine (Base libre)	< 0,1
Quinidine (HCl)	< 0,1
Spironolactone	< 0,1
Testostérone	< 0,1
Théophylline	< 0,1

Non è stata rilevata alcuna interferenza nel dosaggio CEDIA per la digitossina con:

Substance	Concentration
Bilirubine	≤ 60 mg/dL
Hémoglobine	≤ 1 000 mg/dL
Triglycéride	≤ 1 000 mg/dL

#### Sensibilità

La concentrazione minima rilevabile del dosaggio CEDIA per la digitossina è di 1,7 ng/mL.

#### Bibliografia

1. 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.
2. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. Clin Chem. 1986; 32(9): 1637-1641.
3. Dati sulla tracciabilità sono disponibili presso la Microgenics Corporation.
4. Smith TW. Radioimmunoassay for Serum Digitoxin Concentration: Methodology and Clinical Experience, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1970;175(2): 352-360.
5. 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.
6. Dati disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.

#### Glossario:

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



Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA  
Assistenza tecnica e assistenza  
alla clientela negli USA:  
1-800-232-3342



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



Per gli aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare:  
[www.thermofisher.com/diagnostics](http://www.thermofisher.com/diagnostics)

#### Altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.

10003625-10-IT  
2020 06

thermo  
scientific