

IVD Para utilização em diagnóstico *in vitro*

Rx Only

REF 100018 (13 mL, 11 mL Kit)

Utilização prevista

O CEDIA™ Tobramycin II Assay é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina à determinação quantitativa de tobramicina em soro ou sangue humano.

Resumo e explicação do teste

A tobramicina é um antibiótico aminoglicosídeo utilizado no tratamento de infeções causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus species*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* e outros microrganismos. O efeito tóxico da tobramicina é produzido pela interferência com a síntese da proteína ribossomal. A tobramicina sofre pouca, ou mesmo nenhuma, metabolização e é, portanto, eliminada como um medicamento precursor por filtração glomerular.

O intervalo terapêutico deve ser calculado no pico, bem como através das concentrações mínimas. São sugeridas concentrações de plasma ou de níveis séricos máximos da tobramicina para garantir a obtenção de uma atividade antimicrobiana adequada. As concentrações mínimas de tobramicina normalmente garantem que a eliminação do medicamento é adequada e a concentração do medicamento é superior à concentração mínima inibidora. A concentração sérica ou plasmática de tobramicina é influenciada pelo modo de administração, pelo volume de fluido extracelular, pela duração do tratamento e pelas mudanças fisiológicas durante a doença e terapêutica. Portanto, a monitorização dos níveis séricos e de plasma mínimos e máximos de tobramicina é fundamental na prevenção destas complicações graves com o ajuste da administração da dosagem como indicado.

O CEDIA Tobramycin II Assay utiliza tecnologia do ADN (Patente Americana N.º 4708929) recombinante para produzir um sistema de imunoensaio homogéneo de enzima único.

O ensaio baseia-se na enzima bacteriana β-galactosidase, manipulada geneticamente em dois fragmentos inativos, ou seja, aceitador de enzima (EA) e doador de enzima (ED). Estes fragmentos reassociam-se espontaneamente para formar uma enzima totalmente ativa que, no formato de ensaio, penetra num substrato, gerando uma alteração de cor que pode ser medida por espectrofotometria.

No ensaio, o analito na amostra compete com o analito conjugado com um fragmento inativo de β-galactosidase por locais de ligação de anticorpos. Se o analito estiver presente na amostra, liga-se ao anticorpo, deixando os fragmentos de enzima inativos livres para formar uma enzima activa. Se o analito não estiver presente na amostra, o anticorpo liga-se ao analito conjugado no fragmento inativo, inibindo a reassociação de fragmentos de β-galactosidase e não é formada qualquer enzima activa. A quantidade de enzima activa formada e a alteração da absorvência daí resultante são diretamente proporcionais à quantidade de medicamento presente na amostra.

Reagentes

- 1 Tampão de reconstituição do EA:** Contém ácido propano sulfónico 3-(N-morfolino), sais tampão, tensoativo e conservante, (13 mL).
- 1a Reagente do aceitador da enzima:** Contém aceitador de enzima 0,22 g/L, anticorpo monoclonal anti-tobramicina 25,5 mg/L, sais tampão, proteína transportadora, estabilizador e conservante.
- 2 Tampão de reconstituição do doador de enzima:** Contém ácido propano sulfónico 3-(N-morfolino), sais tampão, tensoativo e conservante, (11 mL).
- 2a Reagente do doador de enzima:** Contém 23,4 µg/L de doador de enzima conjugado com tobramicina, 2,4 g/L de β-D-galactopiranosídeo vermelho de clorofenol, 3,3 g/L de anticorpos de cabra antirratos, sais tampão, estabilizador e conservante.

Materiais adicionais necessários (vendidos separadamente):

REF	Descrição do kit
100017	CEDIA Antibiotic TDM Multi-Cal

Controlo(s) comercial(is) – Contacte o serviço de apoio ao cliente para obter recomendações.

⚠️ Precauções e advertências

PERIGO: Os reagentes contêm 35 ≤% de anti-soro IgG (Goat), ≤21% de albumina de soro bovino (BSA), ≤5% de fosfato de sódio, monobloco, 5% de fosfato de sódio, dibásico, anidro, ≤0.6% de azida de sódio e ≤0.2% de anticorpo específico de fármaco. Evitar o contacto com a pele e membranas mucosas. Lavar as áreas afetadas com grandes quantidades de água. Em caso de exposição ocular ou ingestão, procure cuidados médicos imediatamente. A azida de sódio pode reagir com canalizações de cobre ou chumbo e formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Quando eliminar esses reagentes, faça sempre descargas com grandes quantidades de água para evitar a acumulação de azidas. Limpar as superfícies metálicas expostas com hidróxido de sódio a 10%.

- H315 – Provoca irritação cutânea.
- H317 – Pode provocar uma reação alérgica cutânea.
- H319 – Provoca irritação ocular grave.
- H334 – Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias.
- H403 – Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos.

Evitar respirar névoas ou vapores. A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. Em caso de ventilação inadequada, usar proteção respiratória. Se entrar em contacto com a pele: lavar com sabão e água abundantes. EM CASO DE INALAÇÃO: em caso de dificuldade respiratória, retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração.

Em caso de irritação ou erupção cutânea: consultar um médico. Em caso de sintomas respiratórios: contactar um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar. Eliminar o conteúdo/recipiente em local conforme os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais.

Preparação e conservação dos reagentes

Para mais informações sobre a preparação das soluções para analisadores Hitachi. Consulte a folha de aplicação específica do analisador para obter informações sobre outros analisadores.

Retire o kit do armazenamento refrigerado imediatamente antes da preparação das soluções.

Prepare as soluções pela ordem seguinte para minimizar uma possível contaminação.

Solução do doador de enzima R2: ligue o Frasco 2a (Reagente do doador de enzima) ao Frasco 2 (Tampão de reconstituição do doador de enzima) utilizando um dos adaptadores incluídos. Misture invertendo cuidadosamente e certificando-se de que todo o material liofilizado do Frasco 2a é transferido para o Frasco 2. Evite a formação de espuma. Separe o Frasco 2a e o adaptador do Frasco 2 e elimine. Tape o Frasco 2 e deixe-o repousar aproximadamente 5 minutos à temperatura ambiente (15-25 °C). Volte a misturar. Registe a data da reconstituição no rótulo do frasco. Coloque o frasco diretamente no compartimento de reagentes do analisador ou no armazenamento refrigerado e deixe repousar 30 minutos antes de ser utilizado.

Solução do aceitador de enzima R1: ligue o Frasco 1a (Reagente do aceitador da enzima) ao Frasco 1 (Tampão de reconstituição do aceitador da enzima) utilizando um dos adaptadores incluídos. Misture invertendo cuidadosamente e certificando-se de que todo o material liofilizado do Frasco 1a é transferido para o Frasco 1. Evite a formação de espuma. Separe o Frasco 1a e o adaptador do Frasco 1 e elimine. Tape o Frasco 1 e deixe-o repousar aproximadamente 5 minutos à temperatura ambiente (15-25 °C). Volte a misturar. Registe a data da reconstituição no rótulo do frasco. Coloque o frasco diretamente no compartimento de reagentes do analisador ou no armazenamento refrigerado e deixe repousar 30 minutos antes de ser utilizado.

NOTA 1: os componentes fornecidos neste kit destinam-se à utilização como uma unidade integral. Não misture componentes de lotes diferentes.

NOTA 2: evite a contaminação cruzada de reagentes fazendo corresponder as tampas de reagente com os frascos de reagentes adequados. A Solução R2 (doador de enzima) deve ser de cor amarelo alaranjada. Uma cor vermelha ou vermelho púrpura indica que o reagente foi contaminado e deve ser eliminado.

NOTA 3: as Soluções R1 e R2 têm de estar à temperatura de armazenamento do compartimento de reagentes do analisador antes de realizar o ensaio. Para obter informações adicionais, consulte a folha de aplicação específica do analisador.

NOTA 4: para garantir a estabilidade da solução do aceitador da enzima reconstituído, proteja-o de uma exposição contínua prolongada à luz forte.

ConsERVE os reagentes a 2-8 °C. **NÃO CONGEE.** Para estabilidade dos componentes por abrir, consulte a caixa ou os rótulos dos frascos para obter informações sobre a data de validade.

Solução R1: 30 dias refrigerada no analisador ou a 2-8 °C.

Solução R2: 30 dias refrigerada no analisador ou a 2-8 °C.

Colheita e manuseamento de amostras

As amostras de soro ou plasma (Heparina Na ou Li; EDTA Na) são adequadas para utilizar no ensaio. Não provoque a formação de espuma e evite a congelação/descongelação repetida para preservar a integridade da amostra desde o momento em que é colhida até ao momento do ensaio. Centrifugue amostras que contenham uma matéria particulada. Tape as amostras, armazene entre 2 a 8° C e analise no prazo de 1 semana após a recolha. Se o ensaio não puder ser analisado no prazo de 1 semana ou se a amostra tiver de ser enviada, tape a amostra e mantenha-a congelada. Armazene as amostras a -20 °C e analise no prazo de 4 semanas. Trate todas as amostras de doentes como se fossem potencialmente infecciosas.

Procedimento do ensaio

Os analisadores químicos capazes de manter uma temperatura constante, de pipetar amostras, de misturar reagentes, de medir taxas de enzimas e de cronometrar com precisão a reação podem ser utilizados para executar este ensaio. As folhas de aplicações com determinados parâmetros do instrumento estão disponíveis a partir da Microgenics, parte da Thermo Fisher Scientific.

NOTA: Se o código de barras não for lido pelo analisador, a sequência numérica na etiqueta do código de barras pode ser introduzida manualmente através do teclado.

Controlo de qualidade e calibração⁴

Recomenda-se a calibração em 2 pontos

- Após a alteração do frasco de reagente
- após a alteração do lote de reagentes
- conforme necessário, no seguimento de procedimentos de controlo de qualidade

As boas práticas laboratoriais sugerem que sejam testados pelo menos dois níveis (pontos de decisão médica baixos e elevados) de controlo de qualidade em cada dia que as amostras de pacientes sejam analisadas e de cada vez que seja realizada uma calibração. Monitorize os valores de controlo de quaisquer tendências ou trocas. Se forem detectadas quaisquer tendências ou trocas, ou se o controlo não recuperar no intervalo especificado, reveja todos os parâmetros de funcionamento. Contacte o serviço de apoio ao cliente para obter assistência adicional. Todos os requisitos de controlo de qualidade deverão ser realizados em conformidade com os requisitos de acreditação ou regulamentações locais, estatais e/ou federais.

Resultados e valores esperados

O CEDIA Tobramycin II Assay foi concebido para quantificar as amostras de doentes entre 0,24 µg/mL e o valor do Antibiotic TDM High Calibrator (12 µg/mL). Os resultados das amostras inferiores a 0,24 µg/mL devem ser reportados como $\leq 0,24$ µg/mL. Os resultados das amostras superiores a 12 µg/mL podem ser reportados como >12 µg/mL podem também ser diluídas na proporção de uma parte de amostra e uma parte do Antibiotic TDM Low Calibrator e passar por um novo ensaio. O valor obtido no novo ensaio deve ser derivado da seguinte forma:

Valor real = (2 x valor diluído) – concentração do Antibiotic TDM Low Calibrator

Utilize o factor de concentração seguinte para converter µg/mL para µmol/L:

$$\begin{aligned} \mu\text{g/mL} \times 2,14 &= \mu\text{mol/L} \\ \mu\text{mol/L} \times 0,47 &= \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

Os efeitos tóxicos e a eficácia terapêutica são bastante associados com a concentração do fármaco sérico. Na maioria dos adultos, uma resposta máxima terapêutica é alcançada com as concentrações de tobramicina entre 6-10 µg/mL e as concentrações mínimas entre 0,5-2,0 µg/mL.⁵ Outros investigadores também relataram diferentes intervalos terapêuticos de tobramicina.^{5,7}

Limitações

1. A incidência de pacientes com anticorpos para E. coli β-galactosidase é extremamente baixa. No entanto, algumas amostras contendo esses anticorpos podem resultar em resultados artificialmente elevados que não se adequam ao perfil clínico.
2. Canamicina A (>10%), canamicina B (>100%) e dideoxi-canamicina (>100%) demonstram uma interferência significativa com o CEDIA Tobramycin II Assay.
3. Tal como com um ensaio que utilize anticorpos de ratos, existe a possibilidade de interferência de anticorpos humanos antirratos (HAMA) na amostra, que poderia provocar resultados falsamente elevados.

Caraterísticas específicas do desempenho

Os dados de desempenho característicos obtidos num analisador Hitachi 704 são apresentados abaixo.⁸ Os resultados obtidos no laboratório podem ser diferentes destes dados.

Precisão

Foi analisada a precisão dos soros de controlo e amostras de soro humano num analisador Hitachi utilizando diretrizes de experiência de replicação do NCCLS modificadas. Foram obtidos os seguintes resultados:

	Precisão na mesma determinação			Precisão total		
n	20	20	20	53	53	53
\bar{x} (µg/mL)	1,80	5,06	9,12	1,95	5,32	9,54
DP (µg/mL)	0,09	0,10	0,12	0,12	0,19	0,30
CV %	5,0	2,0	1,3	6,2	3,6	3,1

Comparação de métodos

Uma comparação utilizando o CEDIA Tobramycin II Assay (y) com um imunoensaio por fluorescência polarizada disponível comercialmente (x) apresentou a seguinte correlação (µg/mL):

$$\begin{aligned} \text{Regressão linear} \\ y &= -0,01 + 0,99x \\ r &= 0,993 \end{aligned}$$

Número de amostras medidas: 102

Linearidade

Uma amostra elevada foi diluída com o Antibiotic TDM Low Calibrator. A percentagem de recuperação foi então determinada dividindo o valor analisado pelo valor previsto.

% amostra elevada	Valor esperado (µg/mL)	Valor analisado (µg/mL)	% recuperação
100	-	11,7	-
75	8,8	9,1	104
50	5,9	6,2	106
25	2,9	3,0	103

Recuperação

Foi adicionada a tobramicina na forma de uma amostra de soro humano elevada (com adição) à amostra de soro humana baixa. A percentagem de recuperação foi então determinada dividindo o valor analisado pelo valor previsto.

% amostra elevada	Valor esperado (µg/mL)	Valor analisado (µg/mL)	% recuperação
100	-	10,1	-
75	7,6	7,7	101
50	5,1	5,1	101
25	2,6	2,5	96

Especificidade

O CEDIA Tobramycin II Assay é muito específico, tendo substâncias de muito baixa reatividade cruzada de estrutura similar ou fármacos administrados em concomitância. A reatividade cruzada é insignificante clinicamente ($\leq 0,3\%$) para os compostos seguintes.

Composto	Composto	Composto
5-Fluorocitosina	Ácido Etacrínico	Rifampina
Amicacina	Furosemida	Sisomicina
Anfotericina	Ácido fusídico	Espectinomicina
Ampicilina	Gentamicina	Estreptomicina
Carbencilina	Lincomicina	Sulfadiazina
Nafato de cefamandol	Meticilina	Sulfametoxazol
Cefalexina	Metotrexato	Sulfanilamida
Cefaloglicina	Metilprednisolona	Sultiame
Cefalosporina C	Neomicina	Tetraciclina
Cefaloridina	Netilmicina	Ticarclina
Cefalotina	Oxitetraciclina	Trimetoprim
Cloranfenicol	Penicilina-G	Vancomicina
Clindamicina	Penicilina V	
Eritromicina	Prednisolona	

Não foi encontrada qualquer interferência no CEDIA Tobramycin Assay com:

Substância	Concentração	Substância	Concentração
Bilirrubina	≤ 60 mg/dl	IgM	≤ 900 mg/dl
Hemoglobina	≤ 1000 mg/dl	Fator reumatóide	≤ 1200 IU/mL
IgA	≤ 2700 mg/dl	Proteína total	$\leq 13,2$ g/dl
IgG	≤ 4900 mg/dl	Triglicerídeo	≤ 1000 mg/dl

Sensibilidade

A concentração mínima detetável do CEDIA Tobramycin II Assay é 0,24 µg/mL (0,51 µmol/L) (0,51 µmol/L)

Referências bibliográficas

1. Le Goffic F, Capmav ML, Tangy F, Baillarge M. Mechanism of Action of Aminoglycoside Antibiotics, Binding Studies of Tobramycin and Its 6'-N-acetyl derivatives to the Bacterial Ribosome and its Subunits. Eur. J. Biochem. 1979;102, 73-81.
2. Sande MA, Mandell GL. Antimicrobial Agents, The Aminoglycosides. In: Gilman, A.G. Goodman, L.S. and Gilman, A. eds. The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan Publishing Company, 1980:1162-1180.
3. Henderson DR, Friedman SF, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. Clin. Chem. 1986; 32(9): 1637-1641.
4. Os dados sobre a rastreabilidade estão em arquivo na Microgenics Corporation, parte da Thermo Fisher Scientific.
5. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 1990, 3rd edition, pp. 805-807.
6. Dipersisto JR. Gentamicina e outros aminoglicosídeos. In: Pesce AJ, Kaplan LA, eds. Methods in Clinical Chemistry, C.V. Mosby Co., 1987
7. Lew M. Interpretation of Aminoglycoside Serum Levels. Hosp. Pharm. 1979; 14: 465-472.
8. Dados em arquivo na Microgenics Corporation, parte da Thermo Fisher Scientific.

Glossário:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 EUA
Assistência técnica
e ao cliente nos EUA:
1-800-232-3342



EC REP

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



Poderá obter atualizações do folheto informativo em:
www.thermofisher.com/diagnostics

Outros países:

Contacte o representante local da Thermo Fisher Scientific.

10003771-8-PT
2019 07

thermo
scientific