

Ensaio DRI® de toxicidade no soro para deteção de compostos tricíclicos

thermo
scientific

IVD Para utilização em diagnóstico in vitro

Rx Only

REF 1128 (kit de 25 ml, 8 ml)

Utilização prevista

O Ensaio DRI® de toxicidade no soro para deteção de compostos tricíclicos destina-se à determinação qualitativa e semiquantitativa de antidepressivos tricíclicos no soro, plasma ou urina humanos.

Resumo e explicação do teste

A amitriptilina, imipramina e compostos relacionados são antidepressivos tricíclicos vastamente utilizados para o tratamento da depressão. Os metabolitos da amitriptilina e da imipramina (nortriptilina e desipramina, respetivamente) também possuem atividade antidepressiva, mas são menos eficazes do que os compostos principais. Os efeitos secundários mais frequentes associados à utilização de antidepressivos tricíclicos incluem boca seca, obstipação, tonturas, palpitações e retenção de urina. A toxicidade aguda devida aos antidepressivos tricíclicos pode resultar em coma, arritmia cardíaca, depressão respiratória e morte.^{1,2} Os compostos tricíclicos tornaram-se os casos de sobredosagem de fármacos mais comuns nas unidades de cuidados intensivos.³ Deteção da presença de fármacos e determinar a respetiva concentração no soro ou urina de doentes suspeitos de sobredosagem de fármacos pode ajudar o médico a diagnosticar e tratar o doente.

O Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de compostos tricíclicos é um imunoensaio homogéneo de enzima que utiliza reagentes líquidos prontos a utilizar. Foram utilizados anticorpos de compostos tricíclicos específicos para detetar a maior parte dos antidepressivos tricíclicos no soro, plasma ou urina. O teste baseia-se na concorrência por uma quantidade fixa de locais específicos de ligação de anticorpos entre um fármaco marcado com enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e o fármaco na amostra. Na ausência de fármaco na amostra, o fármaco marcado com enzima é ligado pelo anticorpo específico e a atividade da enzima é inibida. Este fenómeno cria uma ligação direta entre a concentração do fármaco na amostra e a atividade da enzima. A atividade da enzima é determinada por espectrofotometria a 340 nm, medindo a respetiva capacidade de converter nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) em NADH.

Reagentes

Reagente de substrato/anticorpo: Contém anticorpos antitricíclicos policlonais (ovelha), glucose-6-fosfato (G6P) e nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Reagente conjugado de enzima: Contém glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) marcada com nortriptilina em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Materiais adicionais necessários (vendidos separadamente):

REF	Descrição do kit
0962	Serum Tox Negative Calibrator, 10 ml
0963	Serum Tox Calibrator 1, 5 ml
0965	Serum Tox Calibrator 2, 5 ml
0967	Serum Tox Calibrator 3, 5 ml
0976	Serum Tox Calibrator 4, 5 ml

⚠️ Precauções e advertências

Os reagentes são prejudiciais se forem ingeridos.

PERIGO: O Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de compostos tricíclicos contém $\leq 0,2\%$ de soro-albumina bovina (BSA) e $\leq 0,5\%$ de anticorpo específico contra o fármaco.

H317 - Pode provocar uma reação alérgica cutânea.

H334 - Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia, de asma ou dificuldades respiratórias.

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 cutânea ou prurido: 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.

Os reagentes utilizados nos componentes do ensaio contêm $\leq 0,09\%$ de azida de sódio. Evite o contacto com a pele e membranas mucosas. Lave as áreas afetadas com água abundante. 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 muita água para evitar a acumulação de azidas. Limpe as superfícies metálicas expostas com hidróxido de sódio a 10%.

Não utilize os reagentes depois do fim dos prazos de validade.

Preparação e armazenamento dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar. Não é necessária qualquer preparação dos reagentes. Todos os componentes do ensaio, quando devidamente armazenados entre 2 e 8 °C, são estáveis até à data de validade indicada no rótulo.

Recolha e manuseamento de amostras

Podem ser utilizados soro, plasma ou urina com o ensaio. Os anticoagulantes como heparina, citratos, oxalatos e EDTA demonstraram não interferir com o ensaio. As amostras de plasma recolhidas com estes anticoagulantes podem ser utilizadas com o ensaio, embora seja preferível uma amostra de soro nova. Armazene as amostras refrigeradas. Deve fazer-se um esforço para manter as amostras pipetadas livres de excesso de resíduos.

Trate todas as amostras de soro, plasma ou urina como se fossem potencialmente infecciosas.

Procedimento do ensaio

Os analisadores químicos capazes de manter uma temperatura constante, de pipetar amostras com precisão, de misturar reagentes, de medir taxas de enzimas a 340 nm e de cronometrar com precisão a reação podem ser utilizados para executar este ensaio. Antes de executar o ensaio, consulte a folha de protocolo específica do analisador, que contém parâmetros e/ou instruções de utilização adicionais.

Controlo de qualidade e calibração

As boas práticas laboratoriais sugerem a utilização de amostras de controlo para assegurar o adequado desempenho do ensaio. Utilize os controlos próximos do calibrador limite para validar a calibração. Os resultados do controlo devem situar-se no intervalo estabelecido. Se os resultados ficarem fora do intervalo estabelecido, os resultados do ensaio são inválidos. Todos os requisitos de controlo de qualidade deverão ser realizados em conformidade com as regulamentações locais, estatais e/ou federais ou requisitos de acreditação.

Análise qualitativa

Para a análise qualitativa de amostras, utilize o calibrador 300 ng/ml como nível de limite. O DRI Serum Tox Calibrator 2, que contém 300 ng/ml de nortriptilina, é utilizado como limite para distinguir as amostras "positivas" das "negativas".

Análise semiquantitativa

Para a análise semiquantitativa, utilize todos os calibradores.

Resultados e valores esperados

Resultados qualitativos

Uma amostra que apresente uma alteração no valor de absorção (ΔA) igual ou superior ao calibrador limite é considerada positiva. Uma amostra que apresente uma alteração no valor de absorção (ΔA) inferior ao calibrador limite é considerada negativa.

Resultados semiquantitativos

É possível obter uma estimativa aproximada da concentração do fármaco nas amostras executando uma curva padrão com todos os calibradores e medindo as amostras a partir da curva padrão.

Os imunoenaios que produzam apenas um resultado único na presença de uma classe de fármacos, como os antidepressivos tricíclicos, não conseguem medir com precisão a concentração de cada componente individual. Para uma aplicação qualitativa, um resultado positivo indica apenas a presença de compostos tricíclicos. Para uma aplicação semiquantitativa, o ensaio fornece uma concentração cumulativa de antidepressivos tricíclicos aproximada.

Limites

- Um resultado positivo deste ensaio indica apenas a presença de compostos tricíclicos, sem apresentar necessariamente uma correlação com a extensão de efeitos fisiológicos e psicológicos.
- Um resultado positivo neste ensaio deve ser confirmado por outro método não-imunológico, como GC/MS.
- O teste foi concebido para utilização apenas com soro, plasma ou urina humanos.
- Outras substâncias e/ou fatores (por ex. técnicos ou procedimentais) para além dos investigados no estudo de especificidade podem interferir com o teste e levar a resultados falsos.

Características específicas do desempenho

Os dados que se seguem foram gerados com um analisador químico clínico Hitachi 717.

Precisão

A precisão na mesma determinação e entre determinações (recolhida num período de três semanas para o soro e duas semanas para a urina) foi avaliada com os calibradores de toxicidade no soro, e amostras clínicas de soro e urina com nortriptilina:

Qualitativos:

Calibrador/ Amostra	Na mesma determinação (n=20)		Entre determinações (n=12)	
	Média ± DP (mA/mín)	% CV	Média ± DP (mA/mín)	% CV
Cal. negativo	275 ± 2,4	0,9	276 ± 3,1	1,1
Cal. 150 ng/ml	308 ± 2,3	0,7	303 ± 3,4	1,1
Cal. 300 ng/ml	342 ± 3,1	0,9	340 ± 4,0	1,2
Cal. 500 ng/ml	376 ± 2,1	0,6	368 ± 3,0	0,8
Cal. 1.000 ng/ml	405 ± 2,7	0,7	401 ± 3,2	0,8
Urina 225 ng/ml	333 ± 5,4	1,6	333 ± 5,5	1,7
Urina 300 ng/ml	352 ± 2,8	0,8	351 ± 4,5	1,3
Urina 375 ng/ml	361 ± 3,2	0,9	358 ± 5,7	1,6

Semiquantitativos:

Calibrador/ Amostra	Na mesma determinação (n=20)		Entre determinações (n=12)	
	Média ± DP (ng/ml)	% CV	Média ± DP (ng/ml)	% CV
Soro 100 ng/ml	110 ± 2,0	1,8	112 ± 3,9	3,5
Soro 500 ng/ml	464 ± 2,9	0,7	470 ± 6,9	1,5
Urina 190 ng/ml	162 ± 8,0	4,9	201 ± 11,9	5,9
Urina 400 ng/ml	408 ± 15,0	3,7	405 ± 34,2	8,4
Urina 800 ng/ml	803 ± 71,1	8,8	852 ± 46,8	5,5

Sensibilidade

A sensibilidade, definida como a concentração mais baixa que se pode diferenciar de 0 ng/ml com confiança de 95% (dois desvios padrão do negativo), é de 40 ng/ml para soro e 20 ng/ml para urina.

Exatidão

Cento e vinte e uma amostras clínicas de soro foram submetidas ao teste para deteção de compostos tricíclicos pelo Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de compostos tricíclicos e por um método EIA comercial. Trinta e seis amostras foram positivas e setenta e nove negativas para ambos os métodos. Das seis amostras discordantes, os resultados do Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de compostos tricíclicos foram de 180 ng/ml a 290 ng/ml, os resultados do ensaio EIA comercial foram de 300 ng/ml a 400 ng/ml e os resultados de HPLC foram de 25 ng/ml a 169 ng/ml. Num estudo separado, noventa amostras clínicas de urina foram testadas para detetar antidepressivos tricíclicos através do ensaio atual e do ensaio Triage (com 1.000 ng/ml como limite) com 96,7% de resultados concordantes. Foram descobertas três amostras discrepantes negativas pelo DRI e positivas pelo Triage contendo misturas de cocaína, carbamazepina e diazepam, mas sem compostos tricíclicos pelo GC/MS.

Especificidade

Foi testada a reatividade cruzada de compostos tricíclicos e outros compostos estruturalmente relacionados no ensaio. A tabela que se segue enumera as concentrações dos compostos que produzem um resultado positivo no ensaio com 300 ng/ml de nortriptilina como calibrador limite.

Composto	Concentração (ng/ml)	Composto	Concentração (ng/ml)
Amitriptilina	400	Doxepina	800
Amoxapina	110.000	Imipramina	300
Clorpromazina	1700	2-hidroxi-Imipramina	4.000
Clomipramina	500	Protriptilina	800
Ciclobenzaprina	600	Trimipramina	750
Desipramina	200		

Foi testada a reatividade cruzada de compostos utilizados em simultâneo com os compostos tricíclicos no ensaio. A tabela que se segue indica a concentração de potenciais reagentes cruzados, nas amostras de soro ou urina, que produzem resultados negativos.

Composto	(µg/ml)	Composto	(µg/ml)
Acetaminofeno	400	Perfenazina	0,4
Anfetamina	500	Fenciclidina	1.000
Carbamazepina	100	Fenobarbital	50
Cocaína	100	Fenitoína	100
Dextrometorfano	1.000	Primidona	100
Diazepam	100	Prometazina	2
Maprotilina	2	Propoxifeno	500
Meperidina	100	Secobarbital	500
Metaqualona	100	Trazodona	5
Metsuximida	100	Ácido valproico	500
Morfina	40		

Bibliografia

1. Spiker DG, Weiss AN, Chang, SS, Ruwitch JF and JT Biggs: Tricyclic Antidepressant Overdose: Clinical Presentation and Plasma Levels. Clin Pharmacol Ther 18:539 (1975).
2. Simpson GM, Pi EH and K White: Plasma Drug Levels and Clinical Response to Antidepressants. J Clin Psychiatry 44:27 (1983).
3. Spector R: Tricyclic Antidepressant Overdose. J Iowa Med Soc 73:320 (1983).

Glossário:

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



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



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



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

Outros países:

Contacte o representante da Thermo Fisher Scientific.