

 IMMULITE[®]
2000

Digoxin

DPC[®]

IMMULITE® 2000 Digoxin

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of digoxin in serum or heparinized plasma, as an aid in monitoring the therapeutic administration of this cardioglycoside, while avoiding toxicity.

Catalog Number: **L2KDI2** (200 tests),
L2KDI6 (600 tests)

Test Code: **DGX** Color: **Light Green**

Summary and Explanation

Immunoassay has proved particularly useful in determining drug overdoses in patients treated with cardiac glycosides. The technique is also useful (a) in clarifying situations where a patient's symptoms might be due either to intrinsic heart disease or to digitalis intoxication; (b) where there is doubt concerning the type of digitalis preparation the patient is taking — in this case, a digitoxin immunoassay is also necessary; (c) for measuring the digoxin ingestion of patients with an inadequate history of previous dosage; (d) in documenting cases of underdigitalization as well as digitalis (digoxin) excess; (e) in monitoring the toxic response in patients with myocardial disease associated with hypokalemia, hypomagnesemia, hypercalcemia, hypoxia and alkalosis, which are particularly sensitive to digitalis; and (f) in preventing overdigitalization, particularly in patients whose renal function is deteriorating or for whom an increased digoxin dosage is contemplated.

The high sensitivity of digoxin immunoassay is especially necessary in view of the small differences and occasional overlap that exist between therapeutic and toxic levels of circulating digoxin.¹³ (Intoxication is defined in terms of arrhythmias and disturbances of cardiac conduction due to the drug's presence.) Smith et al reported serum digoxin concentrations of 0.8–2.4 ng/mL (1.0–3.1 nmol/L) in nontoxic patients, and 2.1–

8.7 ng/mL (2.7–11.1 nmol/L) in toxic patients, based on data taken six hours post-dose in patients with normal renal function.⁸ More recent clinical investigations have confirmed the association of toxicity with serum levels above 2 ng/mL.

Principle of the Procedure

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

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

Collect blood in plain tubes without gel barriers, noting the time of collection, just before the next dose — or, in any case, no less than six hours after the administration of this cardioglycoside, to avoid misleadingly high digoxin results.

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 Digoxin 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: 50 µL serum or plasma.

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.

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.

Digoxin Bead Pack (L2DI12)

With barcode. 200 beads, coated with monoclonal murine anti-digoxin. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KDI2: 1 pack. **L2KDI6:** 3 packs.

Digoxin Reagent Wedge (L2DIA2)

With barcode. Two reagents: 5.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to digoxin, in buffer, and 11.5 mL of buffer. Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KDI2: 1 wedge. **L2KDI6:** 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.

Digoxin Adjustors (L2DIJ3, L2DIJ4)

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

L2KDI2: 1 set. **L2KDI6:** 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 serum pools with at least two levels (low and high) of digoxin.

Therapeutic Range

The following results are reported in the literature, based on data taken six hours post-dose in patients with normal renal function.⁸

Group	Digoxin, ng/mL	Digoxin, nmol/L
Nontoxic patients	0.8 – 2.4	1.0 – 3.1
Toxic patients	2.1 – 8.7	2.7 – 11.1

Consider these limits as *guidelines* only.

Limitations

Sole reliance on digoxin concentrations for determining digitalis toxicity is not warranted, and must be supplemented with additional clinical and electrocardiographic information.

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

The presence of endogenous digoxin-like immunoreactive factors (DLIF) has been reported in the serum of patients with renal and hepatic failure, and in newborns and women in the third trimester of pregnancy.¹⁴ These factors can result in falsely elevated digoxin results in a

number of commercially available immunoassays.

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 digoxin immunoassay procedure. Once such a preparation has been administered, accurate determinations of digoxin 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 digoxin that may be detected immunologically.¹⁵

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 × 1.281 → nmol/L

Calibration Range: 0.5 to 8 ng/mL
(0.6 to 10 nmol/L).

Analytical Sensitivity: 0.2 ng/mL
(0.3 nmol/L).

Precision: Samples were assayed in duplicate over the course of 20 days, two runs per day, 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 three digoxin solutions (15, 30 and 60 ng/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for digoxin, though Lanatoside C and Methyl digoxin do exhibit significant crossreactivity. (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.

Hemoglobin: Presence of hemoglobin in concentrations up to 512 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: Matched serum and heparinized samples were collected from 28 volunteers. Varying amounts of digoxin were added to the matched samples, which were analyzed by the IMMULITE 2000 Digoxin procedure. By linear regression:

(Na Heparin) = 0.96 (Serum) – 0.03 ng/mL
r = 0.988

Means:
2.75 ng/mL (Serum)
2.61 ng/mL (Na Heparin)

The results show that heparinized plasma yields essentially equivalent results to serum.

Method Comparison 1: The assay was compared to IMMULITE Digoxin on 97 samples. (Concentration range: approximately 0.5 to 6.1 ng/mL. See graph 1.) By linear regression:

(IML 2000) = 0.94 (IML) + 0.097 ng/mL
r = 0.977

Means:
1.4 ng/mL (IMMULITE 2000)
1.4 ng/mL (IMMULITE)

Method Comparison 2: The assay was compared to DPC's Coat-A-Count (RIA) Digoxin on 168 samples. (Concentration range: approximately 0.5 to 6.0 ng/mL. See graph 2.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 0.99 (CAC) + 0.004\ ng/mL$$

$$r = 0.975$$

Means:
1.3 ng/mL (IMMULITE 2000)
1.3 ng/mL (Coat-A-Count)

Method Comparison 3: The assay was compared to another automated immunoassay (Kit A) on 169 samples. (Concentration range: approximately 0.5 to 6.2 ng/mL. See graph 3.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 0.96 (Kit\ A) - 0.09\ ng/mL$$

$$r = 0.971$$

Means:
1.3 ng/mL (IMMULITE 2000)
1.5 ng/mL (Kit A)

References

1) Butler VP, Jr., Lindenbaum J. Serum digitalis measurements in the assessment of digitalis resistance and sensitivity. *Am J Med* 1975;58:460-9. 2) Doherty JE. How and when to use the digitalis serum levels. *J Am Med Assoc* 1978;239:2594-6. 3) Gault MH, et al. Studies of digoxin dosage, kinetics and serum concentrations in renal failure and review of the literature. *Nephron* 1976;17:161-87. 4) Huffman DH, et al. Association between clinical cardiac status, laboratory parameters, and digoxin usage. *Am Heart J* 1976;91:28-34. 5) Rietbrock N, Alken RG. The therapy of heart failure with digitalis. *Deutsche Med Wochenschr* 1980;105:1622-8. 6) Shapiro B, et al. Pitfalls in the application of digoxin determinations. *Sem Nucl Med* 1975;5:205-20. 7) Shapiro W. Current considerations in digoxin usage. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1978;9:321-46. 8) Smith TW, et al. Determination of therapeutic and toxic serum digoxin concentrations by radioimmunoassay. *N Engl J Med* 1969;281:1212-16. 9) Smith TW. Medical intelligence. *N Engl J Med* 1973;288:719-22 and 942-6. 10) Smith TW. Digitalis toxicity: epidemiology and clinical use of serum concentration measurements. *Am J Med* 1975;58:470-6. 11) Weintraub M. Interpretation of the serum digoxin concentration. *Clin Pharmacokinetics* 1977;2:205-19. 12) Wettrell G. Digoxin therapy in infants. *Acta Paediatr Scand* 1976; Suppl 257:7-28. 13) Hallworth MJ. Practical therapeutic drug monitoring: digoxin. *Lab Medica* 1991 Mar/Apr;19-22. 14) Valdes R Jr. Endogenous digoxin-like immunoreactive factors: impact on digoxin measurements and

potential physiological implications. *Clin Chem* 1985;9:1525-32. 15) Digoxin immune Fab. In: McEvoy GK, editor. *AHFS Drug Information* 92. American Society of Hospital Pharmacists, 1992: 1977-81.

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	0.6	0.05	8.3%	0.05	8.3%	
2	1.2	0.06	5.0%	0.07	5.8%	
3	2.7	0.12	4.4%	0.15	5.6%	
4	3.3	0.14	4.2%	0.14	4.2%	
5	6.6	0.31	4.7%	0.35	5.3%	

Linearity (ng/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	4 in 4 ⁵	2.1	—	—
	2 in 4	1.1	1.1	100%
	1 in 4	0.5	0.5	100%
2	8 in 8	4.2	—	—
	4 in 8	2.0	2.1	95%
	2 in 8	1.0	1.1	91%
	1 in 8	0.5	0.5	100%
3	8 in 8	4.2	—	—
	4 in 8	1.8	2.1	86%
	2 in 8	0.9	1.1	82%
	1 in 8	0.5	0.5	100%
4	8 in 8	6.4	—	—
	4 in 8	3.2	3.2	100%
	2 in 8	1.5	1.6	94%
	1 in 8	0.7	0.8	88%

5	8 in 8	7.3	—	—
	4 in 8	3.5	3.7	95%
	2 in 8	1.7	1.8	94%
	1 in 8	0.9	0.9	100%

Recovery (ng/mL)

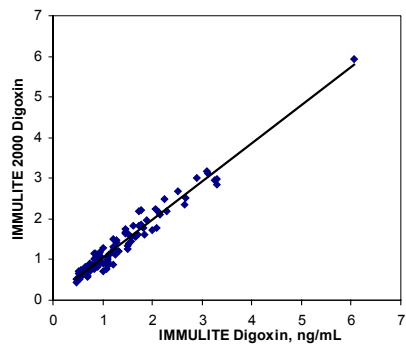
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	ND	—	—
	A	0.7	0.8	88%
	B	1.5	1.5	100%
	C	2.9	3.0	97%
2	—	<0.5	—	—
	A	0.8	0.8	100%
	B	1.5	1.5	100%
	C	2.8	3.0	93%
3	—	1.0	—	—
	A	1.7	1.7	100%
	B	2.4	2.5	96%
	C	3.7	4.0	93%
4	—	2.0	—	—
	A	2.8	2.7	104%
	B	3.3	3.4	97%
	C	4.7	4.9	96%
5	—	3.2	—	—
	A	3.3	3.8	87%
	B	4.1	4.5	91%
	C	5.6	6.0	93%

Specificity

Compound ¹	ng/mL Added ²	Apparent Conc. ng/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
Digitoxin	100	0.99	0.1%
Aldosterone	30	0.19	0.6%
Canrenoic Acid	100	<0.5	ND
	5,000	<0.5	ND
	50,000	<0.5	ND
Corticosterone	40,000	0.23	ND
Cortisone	100,000	0.23	ND
Cortisol	19,600	0.17	ND
11-Deoxy-corticosterone	20,000	0.17	ND
Dexamethasone	100,000	0.12	ND
Estradiol	50	0.20	0.4%
Estriol	10,600	0.24	ND
Lanatoside C	12.5	0.99	7.9%
Methotrexate	100,000	0.19	ND
Methylidigoxin	3.0	4.42	147%
Prednisolone	100,000	0.27	ND
Pregnanediol	100,000	0.22	ND
Pregnenolone	100,000	0.24	ND
Progesterone	10,500	0.24	ND
Spironolactone	100,000	0.24	ND
Testosterone	9,500	0.24	ND
Uzara	1,397	<0.5	ND
	5,588	<0.5	ND

ND: not detectable⁵

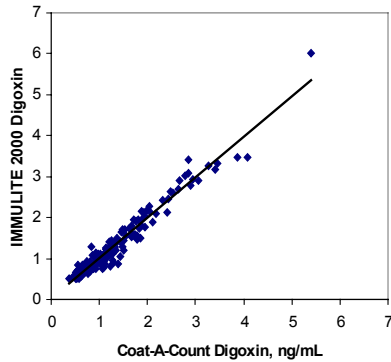
Method Comparison 1:



$$(IML\ 2000) = 0.94 (IML) + 0.097\ \text{ng/mL}$$

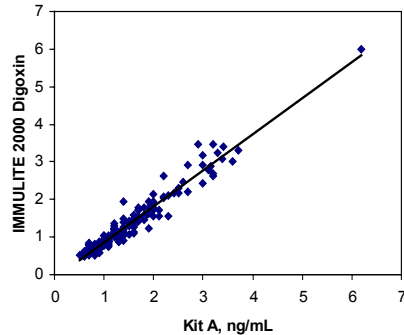
$$r = 0.977$$

Method Comparison 2:



$$(IML\ 2000) = 0.99\ (CAC) + 0.004\ \text{ng/mL}$$
$$r = 0.975$$

Method Comparison 3:



$$(IML\ 2000) = 0.96\ (\text{Kit A}) - 0.09\ \text{ng/mL}$$
$$r = 0.971$$

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴SD (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E, ⁵4 in 4. Recovery: ¹Lösung, ²Beobachten (B), ³Erwarten (E), ⁴% B/E. Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³Ausgewiesene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. Method Comparison: Digoxin: Digoxin.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. Linearity: ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵4 en 4. Recovery: ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. Specificity: ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. Method Comparison: Digoxin: Digoxina.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. Linearity: ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵4 dans 4. Recovery: ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A. Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %, ⁵ND: non détectable. Method Comparison: Digoxin: Digoxine.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). Linearity: ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵4 in 4. Recovery: ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A. Specificity: ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. Method Comparison: Digoxin: Digossina.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. Linearity: ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵4 em 4. Recovery: ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. Specificity: ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reação cruzada, ⁵ND: não detectável. Method Comparison: Digoxin: Digoxina.

Deutsch

Digoxin – IMMULITE 2000

Anwendung: Zur in vitro-Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE 2000 Systems - zur quantitativen Bestimmung von Digoxin in Serum oder heparinisiertem Plasma für die Überwachung einer medikamentösen Behandlung mit Herzglykosiden um Toxizität zu vermeiden.

Artikelnummern:

L2KDI2 (200 tests), **L2KDI6** (600 tests)

Testcode: **DGX** Farbe: **hellgrün**

Klinische Relevanz

Bei Patienten, die mit Herzglykosiden therapiert werden, haben sich Immunoassays in der Erkennung von Überdosierungen als hilfreich erwiesen. Eine Bestimmung des Digoxin im Serum ist indiziert (a) bei der Abklärung von Rhythmusstörungen, da diese sowohl Ausdruck einer nicht kompensierten Herzinsuffizienz, als auch einer Digitalis-Intoxikation sein können; (b) wenn Zweifel bestehen hinsichtlich des Typs des

eingenenommenen Digitalis Präparates. In solchen Fällen ist die zusätzliche Bestimmung des Digitoxins erforderlich; (c) bei Verdacht auf unzuverlässige Einnahme, „Non-Compliance“ des Patienten; (d) zur Erkennung von Digitalis Unter- und Überdosierungen; (e) zur Kontrolle der toxischen Reaktion bei Patienten, deren Empfindlichkeit gegenüber Herzglykosiden erhöht ist: Myokardinsuffizienz in Kombination mit Hypokaliämie, Hypomagnesiämie, Hypercalciämie, Hypoxie und Alkalose; (f) zur Vermeidung von Überdosierungen bei solchen Patienten, deren Nierenfunktion, und damit die Digoxin Ausscheidung, eingeschränkt ist.

Die hohe Empfindlichkeit von Digoxin-Assays ist besonders wichtig im Hinblick auf den geringen Unterschied (und die gelegentliche Überlappung) von therapeutischen und toxischen Digoxin-Blutspiegeln. Eine Intoxikation ist definiert als Arrhythmie oder Störungen der Herzrhythmus in Anwesenheit von Medikamenten. Smith et al. berichten Serum Digoxin Konzentrationen von 0,8–2,4 ng/ml (1,0–3,1 nmol/l) in nicht-toxischen Patienten und von 2,1–8,7 ng/ml (2,7–11,1 nmol/l) in toxischen Patienten. Die Messungen wurden 6 Stunden nach Digoxin Gabe bei Patienten mit normaler Nierenfunktion durchgeführt. Aufgrund verschiedener klinischer Untersuchungen kann generell gesagt werden, dass bei Verwendung von Digoxin und seinen Derivaten bei einer Serumkonzentration unter 2,0 ng/ml eine Intoxikation ungewöhnlich, oberhalb 2,0 ng/ml dagegen zunehmend wahrscheinlich ist.

Methodik

Der IMMULITE 2000 Digoxin Assay ist ein kompetitiver Festphasen-Chemilumineszenz-Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 Minuten.

Probengewinnung

Die Blutentnahme soll in Röhrchen ohne Zusätze oder Trenngel erfolgen. Um irreführend hohe Digoxin 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen 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 Digoxin sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum oder Plasma.

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.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte

Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

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

Digoxin Kugel-Container (L2DI12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit Digoxin-Antikörpern (monoklonal, Maus). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KDI2: 1 Container.

L2KDI6: 3 Container.

Digoxin- Reagenzbehälter (L2DIA2)

Mit Barcode. 2 Reagenzien: 5,5 ml alkalische Phosphatase konjugiert mit Digoxin in Puffer und 11,5 ml Puffer. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KDI2: 1 Behälter.

L2KDI6: 3 Behälter.

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

Digoxin- Kalibratoren (L2DIJ3, L2DIJ4)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch), jeweils mit 2 ml Digoxin in einer humanen Serum-Matrix. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

L2KDI2: 1 Set.

L2KDI6: 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasöhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

L2SUBM: Chemilumineszenz-Substratmodul

L2PWSM: Waschmodul

L2KPM: Reinigungsmodul

LRXT: (Einmal-) Reaktionsgefäße

SDCM: Multikomponentenkontrolle in zwei Konzentrationen.

Ebenfalls benötigt
Transferpipetten für die Proben;
destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;
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.

Proben zur Qualitätskontrolle:

Kontrollen oder Pool-Serum mit Digoxin in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Therapeutischer Bereich

Als Richtwerte für Erwachsene werden in der Literatur folgende Werte genannt (Nierengesunde Patienten, 6 Stunden nach Digoxingabe).⁸

Bereich	Digoxin, ng/ml	Digoxin, nmol/l
Nicht-toxischer Bereich	0,8 – 2,4	1,0 – 3,1
Toxischer Bereich	2,1 – 8,7	2,7 – 11,1

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen.

Grenzen der Methode

Die alleinige Bestimmung der Digoxin Konzentration ist nicht ausreichend, um eine Überdosierung zu diagnostizieren, und muss deshalb um zusätzliche klinische und elektrokardiographische Befunde ergänzt werden.

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

Das Auftreten von sog. Digoxin Like Immunoreactive Factors (DLIF) im Serum von Patienten mit Leber — oder Nierenerkrankungen, sowie bei

Neugeborenen und Frauen im 3. Trimester der Schwangerschaft sollte berücksichtigt werden. Diese Faktoren können zu falsch erhöhten Digoxin Resultaten in vielen kommerziell erhältlichen Immunoassays führen.

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 Digoxin-Immunoassays interferieren können. Nach der Gabe eines solchen Präparates ist die Digoxin 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-Digoxin, welches evtl. von Immunoassays detektiert werden kann.¹⁵

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzen 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 Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Umrechnungsfaktor:
ng/ml × 1,281 → nmol/l

Messbereich: 0,5 – 8 ng/ml
(0,6 – 10 nmol/l).

Analytische Sensitivität: 0,2 ng/ml
(0,3 nmol/l).

Präzision: Proben wurden innerhalb von 20 Tagen mit jeweils zwei Testansätzen 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 Digoxin-Lösungen 1:19 versetzt (15, 30 und 60 ng/ml). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Der Antikörper ist hochspezifisch für Digoxin, wenngleich die Kreuzreaktivität zu Lanatosid C und Methylidigoxin signifikant ist (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.

Hämoglobin: Hämoglobin hat in Konzentrationen bis zu 512 mg/dl keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

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

Alternative Probenarten: Passende Seren und heparinisierte Proben wurden von 28 freiwilligen Probanden gesammelt. Verschiedene Mengen an Digoxin wurden den Proben zugesetzt, welche dann mit IMMULITE 2000 Digoxin bestimmt wurden. Berechnung der linearen Regression:

(Na Heparin) = 0,96 (Serum) – 0,03 ng/ml
r = 0,988

Mittelwerte:
2,75 ng/ml (Serum)
2,61 ng/ml (Na Heparin)

Die Ergebnisse zeigen, dass in heparinisierendem Plasma und Serum vergleichbare Werte gemessen werden.

Methodenvergleich 1: Der Assay wurde unter Verwendung von 97 Patientenproben mit dem IMMULITE Digoxin Assay der DPC verglichen. Konzentrationsbereich ca. 0,5–6,1 ng/ml. Siehe Grafik 1.) Berechnung der linearen Regression:

$(IML\ 2000) = 0,94 (IML) + 0,097\ ng/ml$
 $r = 0,977$

Mittelwerte:
1,4 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,4 ng/ml (IMMULITE)

Methodenvergleich 2: Der Assay wurde unter Verwendung von 168 Patientenproben mit dem Coat-A-Count Digoxin Assay der DPC verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 0,5–6 ng/ml. Siehe Grafik 2.) Berechnung der linearen Regression:

$(IML\ 2000) = 0,99 (CAC) + 0,004\ ng/ml$
 $r = 0,975$

Mittelwerte:
1,3 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,3 ng/ml (Coat-A-Count)

Methodenvergleich 3: Der Assay wurde für 169 Proben mit einem weiteren automatisierten Immunoassay (Kit A) verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 0,5–6,2 ng/ml. Siehe Grafik 3.) Berechnung der linearen Regression:

$(IML\ 2000) = 0,96 (Kit\ A) - 0,09\ ng/ml$
 $r = 0,971$

Mittelwerte:
1,3 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,5 ng/ml (Kit A)

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 Digoxina

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico in vitro con el Analizador IMMULITE 2000 — para la medida cuantitativa de digoxina en suero o plasma heparinizado como ayuda en la monitorización de la administración terapéutica de cardioglucósidos, evitando su toxicidad.

Referencia: **L2KDI2** (200 tests),
L2KDI6 (600 tests)

Código del Test: **DGX**
Código de Color: **Verde claro**

Resumen y Explicación del Test

El inmunoensayo se ha mostrado especialmente útil para determinar la sobredosis en pacientes tratados con glucósidos cardíacos. Esta técnica también es útil: (a) para clarificar situaciones donde los síntomas de los pacientes pueden ser debidos tanto a una enfermedad cardíaca intrínseca como a una intoxicación con digitálicos; (b) cuando se duda qué tipo de preparación con digitálicos está tomando el paciente — en este caso, también es necesario un inmunoensayo de digoxina; (c) para cuantificar la ingestión de digoxina en pacientes con un protocolo de dosificación previo inadecuado, (d) para documentar casos de infradigitalización, así como de digitálicos (digoxina) en exceso; (e) para monitorizar la respuesta tóxica en pacientes con enfermedades del miocardio asociadas con hipocaliemia, hipomagnesemia, hipercalcemia, hipoxia y alcalosis, que son particularmente sensibles a los digitálicos; y (f) para la prevención de sobredigitalización, particularmente en pacientes cuya función renal se encuentra deteriorada o en aquellos en los que se está considerando un aumento de la dosis de digoxina.

La alta sensibilidad del inmunoensayo de digoxina es especialmente necesario debido a las pequeñas diferencias y a las ocasionales superposiciones que existen entre los niveles terapéuticos y tóxicos de digoxina circulante.¹³ (La intoxicación se define en términos de arritmias y de

interrupciones de la conducción cardíaca debido a la presencia del fármaco). Smith et al han definido concentraciones de digoxina en suero de 0,8–2,4 ng/ml (1,0–3,1 nmol/l) en pacientes no intoxicados, and 2,1–8,7 ng/ml (2,7–11,1 nmol/l) pacientes intoxicados, basándose en datos tomados 6 horas después de la administración del medicamento en pacientes con una función renal normal.⁶ Investigaciones clínicas más recientes han confirmado la asociación entre toxicidad y niveles en suero por encima de los 2 ng/ml.

Principio del análisis

IMMULITE 2000 es un ensayo inmunoanálisis competitivo por quimioluminiscencia en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

Recoger la muestra en tubos vacíos sin gel, tomando nota de la hora de colección, justo antes de la próxima dosis – o, en su defecto no antes de seis horas después de la administración de este cardioglucósido para evitar resultados engañosamente elevados.

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 Digoxina 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 Alternativos.

Volumen requerido: 50 µL suero o plasma.

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

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

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.

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

Agua: Use 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 Digoxina (L2DI12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpo monoclonal de ratón anti-digoxina. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

L2KDI2: 1 cartucho.

L2KDI6: 3 cartuchos.

Vial de reactivo de Digoxina (L2DIA2)

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

L2KDI2: 1 vial. **L2KDI6:** 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 Digoxina (L2DIJ3, L2DIJ4)

Dos viales (bajo y alto) que contienen 2 ml cada uno de digoxina en una matriz de suero humano tratado. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse o hasta 6 meses (alícuotados) a –20°C. **L2KDI2:** 1 juego. **L2KDI6:** 2 juegos.

Antes de procesar ajustadores, 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: control multiconstituyente de dos niveles.

También necesarios

Pipetas de transferencia de muestras;
agua destilada o desionizada; 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, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

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

Rangos Terapéuticos

Los siguientes resultados están descritos en la bibliografía, basados en los datos tomados 6 horas después de la dosis en pacientes con función renal normal.⁹

Grupos	Digoxina, ng/ml	Digoxina, nmol/l
Pacientes no intoxicados	0,8 – 2,4	1,0 – 3,1
Pacientes Intoxicados	2,1 – 8,7	2,7 – 11,1

Estos límites han de considerarse sólo como una guía.

Limitaciones

Las concentraciones de digoxina no deben ser utilizadas por sí solas para determinar toxicidad por digitálicos, sino que estos datos deben ser complementados con información clínica adicional y electrocardiogramas.

Muchos factores fisiológicos, farmacológicos, patológicos y genéticos pueden afectar a la interpretación de los resultados (Ver el apartado de Resumen y Explicación del test).

Ha sido descrita la presencia de factores inmunoreactivos semejantes a digoxina (DLIF) endógenos en el suero de pacientes con fallo renal y hepático, en recién nacidos y en mujeres en el 3^{er} trimestre de embarazo.¹⁴ Estos factores pueden dar lugar a niveles falsamente elevados de digoxina en varios inmunoensayos comercialmente disponibles.

En caso de sobredosis, las muestras deben obtenerse antes de administrar el preparado de antídoto con anticuerpos anti-digoxina (e.g. Digibind[®]), dado que éste último puede interferir con cualquier inmunoensayo de digoxina. Una vez que el preparado ha sido administrado, sólo pueden obtenerse determinaciones precisas de digoxina con técnicas especializadas (no disponibles de manera rutinaria en la mayoría de los servicios clínicos) hasta que los fragmentos Fab hayan sido eliminados del cuerpo: esto lleva varios días a los pacientes con una función renal intacta, y una semana o más a los pacientes con daño renal. Además de los efectos *in vitro*, estos preparados de antídoto al administrarse por vía intravenosa, causan una rápida elevación de la digoxina total circulante, farmacológicamente inactiva y unida a los fragmentos Fab, que puede ser detectada inmunológicamente.¹⁵

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 \times 1,281 \rightarrow nmol/l

Intervalo de calibración: 0,5 – 8 ng/ml
(0,6 – 10 nmol/l).

Analytical Sensitivity: 0,2 ng/ml
(0,3 nmol/l).

Precisión: Las muestras fueron procesadas por duplicado durante 20 días, en dos tandas de trabajo por día, para un total de 40 tandas y 80 replicados. (Véase la tabla " Precision ").

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

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de digoxina 15, 30 y 60 ng/ml). (Ver la tabla " Recovery " para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para la digoxina, aunque el

Lanatócido C y Metildigoxina muestran una reactividad cruzada significativa (Véase la tabla " Specificity ").

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y no conjugada en concentraciones de hasta 200 mg/l no tiene ningun efecto en el procedimiento, dentro de la precisión del ensayo.

Hemoglobina: La presencia de hemoglobina en concentraciones de hasta 512 mg/dl no tiene ningun efecto en el procedimiento, dentro de la precisión del ensayo.

Lipemia: La presencia de triacilglicéridos en concentraciones de hasta 3 000 mg/dl no tiene ningun efecto en el procedimiento, dentro de la precisión del ensayo.

Tipo alternativo de muestra: Muestras iguales de suero y plasma heparinizado fueron recogidas de 28 voluntarios. Distintas cantidades de digoxina fueron añadidas a las muestras, que fueron analizadas por el procedimiento IMMULITE 2000 Digoxina. Por regresión lineal:

(Heparina Na) = 0,96 (Suero) – 0,03 ng/ml
r = 0,988

Medias:
2,75 ng/ml (Suero)
2,61 ng/ml (Heparina Na)

Los resultados muestran que el plasma heparinizado esencialmente produce resultados equivalentes al suero.

Comparación de métodos 1: El ensayo se ha comparado con el ensayo IMMULITE Digoxina de DPC en 97 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,5 a 6,1 ng/ml. Véase el gráfico 1). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,097 ng/ml
r = 0,977

Medias:
1,4 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,4 ng/ml (IMMULITE)

Comparación de métodos 2: El ensayo se ha comparado con el ensayo Coat-A-Count (RIA) Digoxina de DPC en 168 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 0,5 a 6,0 ng/ml. Véase el gráfico 2). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,99 (CAC) + 0,004 ng/ml
r = 0,975

Medias:
1,3 ng/mL (IMMULITE 2000)
1,3 ng/mL (Coat-A-Count)

Comparación de métodos 3: El ensayo fue comparado con otro inmunoensayo automatizado (Kit A) en 169 muestras. (Rango de concentraciones: 0,5 a 6,2 ng/ml. Véase el gráfico 3). Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,96 (Kit A) – 0,09 ng/ml
r = 0,971

Medias:
1,3 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,5 ng/ml (Kit A)

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 Digoxine

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la digoxine dans le sérum ou le plasma hépariné. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'analyseur IMMULITE 2000 et constitue une aide au suivi de l'administration thérapeutique de ce glycoside cardiaque pour en éviter la toxicité.

Référence catalogue : **L2KDI2** (200 tests), **L2KDI6** (600 tests)

Code produit : **DGX**
Code couleur : **vert clair**

Introduction

Les tests immunologiques ont prouvé qu'ils étaient particulièrement utiles pour déterminer les surdosages chez les patients traités par les glycosides cardiaques. Ce dosage est aussi important (a) pour clarifier les situations où les symptômes des patients peuvent être dus à une maladie cardiaque intrinsèque ou à une intoxication digitalique; (b) s'il y a un doute concernant la préparation digitalique prise par le patient - dans ce cas un test pour le dosage de la digitoxine

est aussi nécessaire; (c) pour adapter le traitement chez un patient qui présentait antérieurement un sous-dosage; (d) pour documenter des cas de sur ou de sous digitalisation; (e) pour suivre la réponse au traitement des patients ayant une maladie myocardique associée à une hypokaliémie, hypomagnésémie, hypercalcémie, hypoxie, alcalose qui sont particulièrement sensibles à la digitaline; et (f) pour prévenir le surdosage en digitaline, particulièrement chez les sujets qui ont une fonction rénale altérée ou chez ceux à qui on augmente la posologie de Digoxine.

Une grande sensibilité des tests immunologiques de Digoxine est vraiment nécessaire en raison d'une superposition possible des zones thérapeutique et toxique de la digoxinémie.¹³ (Une intoxication est définie par une arythmie et des perturbations de la conduction cardiaque dues aux médicaments). Smith et Coll en 1969, ont déterminé les concentrations sériques de Digoxine correspondant à la zone thérapeutique 0,8 à 2,4 ng/ml (1 à 3,1 nmol/l) et à la zone toxique 2,1 à 8,7 ng/ml (2,7 à 11,1 nmol/l) en se basant sur les données obtenues 6 heures après la dernière prise, chez des sujets ayant une fonction rénale normale.⁸ Des études cliniques plus récentes ont confirmé qu'une toxicité pouvait survenir pour des taux sériques au-dessus de 2 ng/ml.

Principe du test

Le test IMMULITE 2000 Digoxine est un immunodosage par compétition en phase solide, en chimiluminescence avec amplification enzymatique.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Prélever sur tubes ordinaires sans gel, en notant l'heure du prélèvement, juste avant la prise du médicament ou en tout cas au moins 6 heures après la dernière administration pour éviter des résultats trompeusement élevés en digoxine.

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 Digoxine 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 : 50 µl de sérum ou de plasma

Conservation : Stable à +2°/ +8°C pendant 7 jours, 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 à la réglementation 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.

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

Eau : utiliser uniquement 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 Digoxine (L2DI12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin anti-digoxine. Stable à +2°/ +8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KDI2: 1 cartouche.

L2KDI6: 3 cartouches.

Cartouche à réactif Digoxine (L2DIA2)

Avec code-barre. Deux réactifs: 5,5 ml de phosphatase alcaline (intestins de veaux) liée à de la digoxine, dans un tampon, et 11,5 ml de tampon. Stable à +2°/ +8°C jusqu'à la date de péremption.

L2KDI2: 1 cartouche.

L2KDI6: 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 Digoxine (L2DIJ3, L2DIJ4)

2 flacons d'ajusteurs («bas» et «haut»), de 2 ml chacun, de digoxine dans une matrice de sérum humain. Stable à +2°C/+8°C pendant 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

L2KDI2: 1 jeu. **L2KDI6:** 2 jeux.

Avant d'effectuer une calibration, 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
Pipettes de transfert d'échantillon ; eau
distillée ou désionisée ; Contrôles.

Protocole de dosage

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

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 IMMULITE 2000.

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) de Digoxine.

Zone thérapeutique

Les résultats suivants ont été rapportés dans la littérature, basés sur des prélèvements faits 6 heures après la prise thérapeutique, chez des patients ayant une fonction rénale normale.⁵

Groupe	Digoxine ng/ml	Digoxine nmol/l
Zone thérapeutique	0,8 – 2,4	1,0 – 3,1
Zone toxique	2,1 – 8,7	2,7 – 11,1

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement.

Limites

Le seul dosage de digoxinémie ne permet pas d'affirmer la toxicité digitalique, il faut aussi prendre en compte les signes cliniques et l'électrocardiogramme.

De nombreux facteurs physiologiques, pharmacologiques, pathologiques et génétiques peuvent affecter l'interprétation des résultats (voir le chapitre Introduction).

L'existence dans le sérum de facteurs endogènes ayant une immunoréactivité digoxine-like (DLIF) a été rapportée chez les patients ayant une insuffisance rénale et hépatique, les nouveau-nés et les femmes enceintes au 3ème trimestre de la grossesse.¹⁴ Ces facteurs peuvent donner

des résultats de Digoxine faussement élevés avec nombre de tests disponibles dans le commerce.

En cas de surdosage, les échantillons doivent être prélevés avant l'administration de l'antidote composé de Fab anti-Digoxine (par ex Digibind®) car celle-ci peut interférer avec tous les tests immunologiques de dosage de la Digoxine. Dès que ce traitement a été administré, des dosages précis de Digoxine ne peuvent être réalisés que par des techniques spécialisées (qui ne sont pas disponibles en routine dans la plupart des centres) jusqu'à l'élimination des fragments Fab par l'organisme ce qui prend plusieurs jours chez les patients qui ont une fonction rénale intacte et une semaine ou plus en cas de fonction rénale altérée. En plus de leurs effets *in vitro*, ces préparations, administrées en intra veineux, provoquent une augmentation rapide de Digoxine totale circulante pharmacologiquement inactive car liée au Fab mais détectée immunologiquement.¹⁵

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 1,281 \rightarrow nmol/l

Intervalle de linéarité : 0,5 – 8 ng/ml (0,6 – 10 nmol/l).

Sensibilité analytique : 0,2 ng/ml (0,3 nmol/L).

Précision : les échantillons sont dosés en duplicata sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicata au total. (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 : des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions digoxine (15, 30 et 60 ng/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps est hautement spécifique de la Digoxine, cependant le Lanatoside C et la Méthyldigoxine présente une réaction croisée significative. (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.

Héoglobine : La présence d'hémoglobine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 512 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.

Utilisation de différents types

d'échantillons : Différents échantillons de sérum et de plasma hépariné ont été prélevés sur 28 volontaires. Des quantités variables de Digoxine ont été ajoutés à ces échantillons qui ont été dosé avec le test IMMULITE 2000 Digoxine. Par régression linéaire :

(Na Héparine) = 0,96 (Sérum) – 0,03 ng/ml
 $r = 0,988$

Moyennes:
2,75 ng/ml (Sérum)
2,61 ng/ml (Na Héparine)

Les résultats démontrent que le plasma hépariné conduit à des résultats équivalents à ceux du sérum.

Comparaison de méthodes 1 : le test a été comparé au test IMMULITE Digoxine de DPC sur 97 échantillons (intervalle de concentrations : 0,5 à 6,1 ng/ml environ. Voir graphique 1). Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,097 ng/ml
 $r = 0,977$

Moyennes:
1,4 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,4 ng/ml (IMMULITE)

Comparaison de méthodes 2 : le test a été comparé au test Coat-A-Count Digoxine de DPC sur 168 échantillons (intervalle de concentrations : 0,5 à 6,0 ng/ml environ. Voir graphique 2). Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,99 (CAC) + 0,004 ng/ml
 $r = 0,975$

Moyennes:
1,3 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,3 ng/ml (Coat-A-Count)

Comparaison de méthodes 3 : le test a été comparé à un autre immunodosage automatisé (Kit A) sur 169 échantillons (intervalle de concentrations : 0,5 à 6,2 ng/ml environ. Voir graphique 3). Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,96 (Kit A) – 0,09 ng/ml
 $r = 0,971$

Moyennes:
1,3 ng/ml (IMMULITE 2000)
1,5 ng/ml (Kit A)

Assistance technique

Contactez 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 Digossina

Uso: Per prove diagnostiche *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa della Digossina nel siero o nel plasma eparinizzato, quale ausilio nel monitoraggio della

somministrazione terapeutica di questo cardioglicoside, evitando la tossicità.

Codice: **L2KDI2** (200 test),
L2KDI6 (600 test)

Codice del Test: **DGX**
Colore: **Verde Chiaro**

RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

Il dosaggio è particolarmente utile nella determinazione di sovradosaggi di farmaci in pazienti trattati con glucosidi cardiaci. La tecnica è utile anche (a) per chiarire situazioni in cui i sintomi del paziente possono essere dovuti ad una patologia cardiaca intrinseca o ad intossicazione da digitalis; (b) dove rimane il dubbio circa il tipo di preparato di digitalis somministrato al paziente – è necessario anche un dosaggio della digitossina; (c) per misurare l'ingestione di digossina in pazienti con dosaggi precedenti insufficienti; (d) per documentare casi di sottodigitalizzazione e di eccesso di digitalis (digossina); (e) per monitorare la risposta tossica in pazienti con malattie cardiache associate ad ipocalcemia, ipomagnesemia, ipercalcemia, ipossia e alcalosi, che sono particolarmente sensibili alla digitalis; e (f) per evitare la sovradigitalizzazione, soprattutto in pazienti la cui funzione renale si stia deteriorando o per cui si contempli un aumento nella dose di digossina.

L'elevata sensibilità del dosaggio della digossina è particolarmente necessaria a causa delle poche differenze e della possibile sovrapposizione che esiste tra livelli terapeutici e tossici della digossina circolante.¹³ (L'intossicazione si definisce in termini di aritmie e disturbi della conduzione cardiaca dovuti alla presenza del farmaco). Smith et al hanno registrato concentrazioni di digossina nel siero da 0,8 a 2,4 ng/mL (1,0–3,1 nmol/L) in pazienti non tossici, e 2,1–8,7 ng/mL (2,7–11,1 nmol/L) in pazienti tossici, in base ai dati raccolti sei ore dopo la somministrazione della dose in pazienti con funzioni renali normali.⁸ Studi clinici più recenti hanno confermato l'associazione della tossicità con livelli sierici superiori a 2 ng/mL.

Principio del procedimento

Il dosaggio IMMULITE 2000 Digossina è un dosaggio competitivo in fase solida ed in chemiluminescenza.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Raccolta dei campioni

Prelevare il sangue in provette semplici senza barriere di gel, annotando l'ora del prelievo, poco prima della dose successiva – o, in ogni caso, non meno di sei ore dopo la somministrazione di questo cardioglicoside, per evitare risultati di digossina erroneamente elevati.

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

I campioni emolizzati possono indicare il 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 Digossina non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

Volume richiesto: 50 µL di siero o plasma

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

Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Scartare in conformità alle leggi applicabili.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se

fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la Sifilide, gli anticorpi Anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli Anticorpi Anti-Epatite C.

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

Acqua: Utilizzare 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 Digossina (L2DI12)

Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-Digossina. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KDI2: 1 confezione.

L2KDI6: 3 confezioni.

Porta Reagente Digossina (L2DIA2)

Con codice a barre. Due reagenti: 5,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugato con Digossina, in un tampone, e 11,5 mL di tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KDI2: 1 Porta Reagente.

L2KDI6: 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 Digossina (L2DIJ3, L2DIJ4)

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

L2KDI2: 1 set. **L2KDI6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) 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 multi-costituito a due livelli

Materiali richiesti

Pipette per il trasferimento dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

Procedura del Dosaggio

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

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

Intervallo di Calibrazione Consigliato:

2 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:

Utilizzare controlli o campioni di siero con almento due livelli (Basso ed Alto) di Digossina.

Range Terapeutico

I seguenti risultati sono riportati in letteratura, in base ai dati raccolti sei ore dopo la somministrazione della dose in pazienti con funzionalità renale normale.⁸

Gruppo	Digossina, ng/mL	Digossina, nmol/L
Pazienti non tossici	0,8 – 2,4	1,0 – 3,1
Pazienti tossici	2,1 – 8,7	2,7 – 11,1

Considerare questi limiti soltanto come *linee guida*.

Limiti

Non è consigliabile basarsi solamente sulle concentrazioni di Digossina per determinare la tossicità della digitalis; devono essere fornite altre informazioni cliniche ed elettrocardiografiche.

Molti fattori fisiologici, farmacologici, patologici e genetici possono influenzare l'interpretazione dei risultati (vedi la

sezione Riassunto e Spiegazione del Dosaggio).

E' stata documentata la presenza di fattori endogeni immunoreattivi digossina simili (DLIF) nel siero di pazienti con insufficienza renale ed epatica, ed in neonati e donne nel terzo trimestre di gravidanza.¹⁴ Questi fattori possono determinare risultati di Digossina falsamente elevati in un dato numero di dosaggi immunologici disponibili in commercio.

In casi di sovradosaggio, i campioni devono essere ottenuti *prima* di somministrare l'antidoto immuno Fab della digossina (p.e. Digibind[®]) poichè è probabile che questi interferiscano con il dosaggio della Digossina. Dopo somministrazione del preparato è possibile eseguire determinazioni accurate della digossina soltanto mediante tecniche specializzate (non comunemente disponibili in molti centri clinici) finchè i frammenti Fab siano stati eliminati dal corpo; questo processo richiede alcuni giorni in presenza di una funzionalità renale integra, ed una settimana o più per pazienti con insufficienza renale. Oltre agli effetti *in vitro*, queste preparazioni, somministrate per via endovenosa, causano un aumento rapido nella Digossina circolante farmacologicamente inattiva Fab legata che può essere individuata immunologicamente.¹⁵

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 tavole e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in ng/mL. (Laddove non diversamente specificato, tutti i dati sono stati generati su campioni di siero raccolti in provette senza gel separatore o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

Fattore di Conversione:
ng/mL × 1,281 → nmol/L

Gamma di calibrazione: 0,5 – 8 ng/mL
(da 0,6 a 10 nmol/L).

Sensibilità Analitica: 0,2 ng/mL
(0,3 nmol/L).

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio nel corso di 20 giorni, due sedute al giorno, per un totale di 40 sedute ed 80 replicati. (Vedi la tabella "Precision")

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

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 cui sono state aggiunte tre soluzioni (15, 30 e 60 ng/mL) di Digossina (Vedi la tabella "Recovery" per dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è altamente specifico per la digossina, sebbene il Lanatoside C e la Metildigossina presentino una crossreattività significativa. (Vedi la tabella "Specificity".)

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

Emoglobina: La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 512 mg/dL non ha nessun effetto entro il range di precisione del dosaggio.

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

Tipo di Campione Alternativo: Sono state aggiunte quantità variabili di Digossina a campioni misti di siero provenienti da 28 volontari ed analizzati con il dosaggio IMMULITE 2000 Digossina. Mediante regressione lineare:
(Eparina sodica) = 0,96 (Siero) – 0,03 ng/mL
r = 0,988

Valore medio:
2,75 ng/mL (Siero)
2,61 ng/mL (Eparina sodica)

I risultati mostrano che i campioni di plasma eparinizzato producono essenzialmente risultati equivalenti al siero.

Paragone dei metodi 1: La prova è stata paragonata al Dosaggio IMMULITE Digossina della DPC in 97 campioni. (Gamma di concentrazione: da 0,5 a 6,1 ng/mL circa. Vedere la grafica 1.) Mediante regressione lineare:

$(\text{IML } 2000) = 0,94 (\text{IML}) + 0,097 \text{ ng/mL}$
 $r = 0,977$

Valore medio:
1,4 ng/mL (IMMULITE 2000)
1,4 ng/mL (IMMULITE)

Paragone dei metodi 2: La prova è stata paragonata al dosaggio Coat-A-Count Digossina della DPC in 168 campioni. (Gamma di concentrazione: da 0,5 a 6 ng/mL circa. Vedere la grafica 2.) Mediante regressione lineare:

$(\text{IML } 2000) = 0,99 (\text{CAC}) + 0,004 \text{ ng/mL}$
 $r = 0,975$

Valore medio:
1,3 ng/mL (IMMULITE 2000)
1,3 ng/mL (Coat-A-Count)

Paragone dei metodi 3: La prova è stata paragonata al un altro immunodosaggio automatizzato (Kit A) in 169 campioni. (Gamma di concentrazione: da 0,5 a 6,2 ng/mL circa. Vedere la grafica 3.) Mediante regressione lineare:

$(\text{IML } 2000) = 0,96 (\text{Kit A}) - 0,09 \text{ ng/mL}$
 $r = 0,971$

Valore medio:
1,3 ng/mL (IMMULITE 2000)
1,5 ng/mL (Kit A)

Assistenza tecnica

Contattare il distributore nazionale.

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

Português

IMMULITE 2000 Digoxina

Utilização: Para uso *in vitro* com o Analisador IMMULITE 2000 — para o doseamento quantitativo da digoxina no

soro e plasma heparinizado, como auxílio na monitorização da administração terapêutica deste cardioglicosido, de modo a evitar zonas de toxicidade.

Números de catálogo: **L2KDI2** (200 testes), **L2KDI6** (600 testes)

Código do teste: **DGX** Cor: **Verde claro**

Sumário e explicação do teste

Os imunoensaios têm-se demonstrado particularmente úteis na determinação de overdose de drogas em doentes tratados com cardioglicosidos. Esta técnica também é útil para: (a) esclarecer situações onde os sintomas do doente possam ser causados tanto por doença cardíaca intrínseca ou intoxicação digital; (b) quando existirem dúvidas relativamente ao tipo de preparação digital que o doente está a tomar (o imunoensaio de digitoxina torna-se necessário também nesse caso); (c) para medir a ingestão de digoxina em doentes com uma história inadequada de dosagens anteriores; (d) na documentação de casos de carência assim como de excesso de digitais (digoxina); (e) na monitorização da resposta tóxica em doentes com doenças do miocárdio associadas com hipocalcémia, hipomagnésémia, hipercalecémia, hipoxia e alcalose, que são particularmente sensíveis a digitais; e (f) na prevenção de excesso de digitais, particularmente em doentes cuja função renal está em deterioração ou para quem uma dosagem superior de digoxina está a indicada.

A alta sensibilidade do imunoensaio de digoxina é especialmente necessária de acordo com as pequenas diferenças e sobreposição ocasional que existem entre níveis *terapêuticos* e *tóxicos* de digoxina circulante.¹³ (A Intoxicação é definida em termos de arritmias e distúrbios de condução cardíaca devido à presença da droga.) Smith et al relataram concentrações de digoxina em soro de 0,8–2,4 ng/mL (1,0–3,1 nmol/L) em doentes não tóxicos, e 2,1–8,7 ng/mL (2,7–11,1 mol/L) em doentes tóxicos, baseados em dados colhidos 6 horas após administração da dose em doentes com função renal normal.⁸ Investigações clínicas mais recentes confirmaram a

relação de toxicidade com níveis de soro superiores a 2 ng/mL.

Princípio do Procedimento

O kit de IMMULITE 2000 Digoxina é um imunoensaio enzimático de fase sólida, competitivo por quimioluminescência.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos.

Colheita

Recolha o sangue em tubos simples sem barreiras de gel, anotando a hora de colheita, imediatamente antes da próxima dose — ou nunca menos de seis horas após a administração deste cardioglicosido, para evitar falsos resultados altos de digoxina.

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 Digoxina 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: 50 µL de soro ou plasma.

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. Elimine 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.

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

Água: Use água destilada ou desionizada.

Materiais Fornecidos

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

Embalagem de pérolas de Digoxina (L2DI12)

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de rato anti-digoxina. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KDI2: 1 embalagem.

L2KDI6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de Digoxina (L2DIA2)

Com código de barras. Dois reagentes: 5,5 ml de fosfatase alcalina (de intestino bovino) conjugada com digoxina, tamponizada, e 11,5 ml de tampão. Estável até à data de validade a 2–8°C.

L2KDI2: 1 embalagem.

L2KDI6: 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 Digoxina (L2DIJ3, L2DIJ4)

Dois frascos (nível alto e baixo), 2 ml cada, de digoxina numa matriz de soro humano. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KDI2: 1 conjunto.

L2KDI6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma 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 :

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; 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, 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 digoxina.

Faixa terapêutica

Os seguintes resultados encontram-se descritos na literatura, baseados em dados obtidos seis horas após a administração de doses em doentes com função renal normal.⁸

Grupo	Digoxina, ng/mL	Digoxina, nmol/L
Doentes não tóxicos	0,8 – 2,4	1,0 – 3,1
Doentes tóxicos	2,1 – 8,7	2,7 – 11,1

Considere estes limites apenas como *directrizes*.

Limitações

Não é aconselhável confiar unicamente nas concentrações de digoxina para a determinação de toxicidade por digitais, e este método deve ser complementado por informação electrocardiográfica e clínica adicional.

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

A presença de factores imunoreactivos endógenos similares à digoxina (DLIF) tem sido relatada no soro de doentes com insuficiência renal e hepática, em recém-nascidos e mulheres no terceiro trimestre de gestação.¹⁴ Estes factores podem dar origem a resultados falsamente elevados de Digoxina em vários ensaios comerciais.

Em casos de dosagem excessiva, as amostras devem ser obtidos *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 digoxina. Assim que tal preparação for administrada, apenas se poderão realizar determinações exactas de digoxina através de 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 digoxina total, ligada a Fab, farmacologicamente inactiva, que pode ser detectada imunologicamente.¹⁵

Os anticorpos heterófilicos 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 interações 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 × 1,281 → nmol/L

Calibração: 0,5 – 8 ng/mL
(0,6 to 10 nmol/L).

Sensibilidade Analítica: 0,2 ng/mL
(0,3 nmol/L).

Precisão: Amostras foram processadas em duplicado num período de 20 dias, dois ensaios por dia, perfazendo um total de 40 ensaios e 80 réplicas. (Consulte a tabela "Precision".)

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

Recuperação: Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 três soluções digoxina (15, 30 e 60 ng/mL) de digoxina antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O anticorpo é altamente específico para a Digoxina, embora o Lanatosido C e a Metildigoxina exibam reacção cruzada significativa. (Ver tabela de "Specificity".)

Bilirrubina: A presença de bilirubina 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 512 mg/dL não tem efeito nos 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 amostras alternativas: Foram colhidas amostras de 28 voluntários (soros e plasmas heparinizados): Adicionou-se digoxina às amostras e doseou-se com o método de IMMULITE 2000 Digoxina. Regressão linear:

(Na Heparin) = 0,96 (Soro) – 0,03 ng/mL
r = 0,988

Médias:
2,75 ng/mL (Soro)
2,61 ng/mL (Na Heparin)

Os resultados mostram valores equivalentes entre o soro e plasma heparinizados.

Comparação de Métodos 1: O doseamento foi comparado ao Kit de Digoxina IMMULITE da DPC em 97 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,5 a 6,1 ng/mL. Consulte o gráfico 1.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,94 (IML) + 0,097 ng/mL
r = 0,977

Médias:
1,4 ng/mL (IMMULITE 2000)
1,4 ng/mL (IMMULITE)

Comparação de Métodos 2: O doseamento foi comparado ao Kit de Digoxina Coat-A-Count da DPC em 168 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 0,5 a 6,0 ng/mL. Consulte o gráfico 2.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,99 (CAC) + 0,004 ng/mL
r = 0,975

Médias:
1,3 ng/mL (IMMULITE 2000)
1,3 ng/mL (Coat-A-Count)

Comparação de Métodos 3: O doseamento foi comparado a outro imunoensaio automatizado (Kit A) em 169 amostras de doentes. (Zona de trabalho:

aproximadamente 0,5 a 6,2 ng/mL.
Consulte o gráfico 3.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,96 (Kit A) – 0,09 ng/mL
r = 0,971

Médias:

1,3 ng/mL (IMMULITE 2000)

1,5 ng/mL (Kit A)

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 

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

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

2005-04-05

PIL2KDI – 9



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