


ARK™ Topiramate Assay





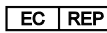






Este folheto informativo da ARK Diagnostics, Inc. para o Ensaio do Topiramato ARK deve ser lido atentamente antes da utilização. Devem seguir-se as instruções contidas no folheto informativo. A fiabilidade dos resultados do ensaio não pode ser garantida se houver quaisquer desvios das instruções contidas neste folheto informativo.

Serviço de atendimento ao cliente

 **ARK Diagnostics, Inc.**
 48089 Fremont Blvd
 Fremont, CA 94538 USA
 Tel: 1-877-869-2320
 Fax: 1-510-270-6298
 customersupport@ark-tdm.com
 www.ark-tdm.com

 **EC REP**
 Emergo Europe
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 Países Baixos

Símbolos utilizados

	Código do lote	 AAAA-MM-DD	Consumir até/Data de validade
	Número do catálogo		Fabricante
	Representante autorizado		Marca CE
	Dispositivo médico de diagnóstico in vitro		Limite de temperatura
	Consulte as instruções de utilização	 	Reagente 1/Reagente 2
Rx Only	Requer prescrição médica		

1 Nome

ARK™ Topiramate Assay

2 Utilização prevista

O Ensaio do Topiramato é um imunoenensaio enzimático homogêneo que se destina à determinação quantitativa do topiramato no soro ou plasma humano em analisadores bioquímicos automatizados. Os resultados obtidos são utilizados no diagnóstico e tratamento da overdose do topiramato e na monitorização dos níveis do topiramato para assegurar um tratamento apropriado.

3 Resumo e explicação do teste

O topiramato (2,3:4,5-Sulfamato de 2,3:4,5-di-o-isopropilideno-β-D-frutopiranoose) é um medicamento anticonvulsivo aprovado para o uso no tratamento da epilepsia e frequentemente é descrito como monoterapia ou como um dos componentes de um tratamento com múltiplos medicamentos antiepilépticos.

4 Princípios do procedimento

O Ensaio de Topiramato ARK é um imunoenensaio enzimático homogêneo baseado na concorrência entre o fármaco na amostra e o epítipo do topiramato rotulado com a enzima glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PDH) para ligar ao reagente de anticorpos. Na medida em que este liga anticorpos, a atividade enzimática diminui. Na presença do medicamento na amostra, a atividade enzimática aumenta e é diretamente proporcional à concentração do fármaco. A enzima ativa converte a nicotinamida adenida dinucleotídeo (NAD) em NADH que é medida espectrofotometricamente como taxa de alteração da absorção. O soro endógeno G6PDH não interfere com os resultados porque a coenzima NAD funciona apenas com a enzima bacteriana usada no ensaio.

5 Reagentes

REF	Descrição do produto	Quantidade/Volume
5015-0001-00	ARK™ Topiramate Assay Reagente R1 – Anticorpo/Substrato anticorpos policlonais do coelho* para topiramato, glicose-6-fosfato, nicotinamida adenida dinucleotídeo, soroalbumina bovina, conservantes e estabilizadores	1 X 28 mL
	Reagente R2 – Enzima epítipo de topiramato classificado com G6PDH bacteriana, tampão, soroalbumina bovina, conservantes e estabilizadores	1 X 14 mL

*Anticorpos são produzidos seletivamente á parte epítipo do topiramato.

Manuseamento e armazenamento do reagente

Os reagentes do Ensaio do Topiramato ARK são disponibilizados líquidos, prontos para a utilização e podem ser usados diretamente após retirados do frigorífico. Quando não forem utilizados, os reagentes devem ser armazenados a 2–8°C (36–46°F), na vertical e com as tampas com roscas firmemente fechadas. Se armazenados conforme indicado, os reagentes são estáveis até à data de validade que consta no rótulo. Não congele os reagentes. Evite uma exposição prolongada a temperaturas superiores a 32°C (90°F). **O armazenamento impróprio de reagentes pode afetar o desempenho do ensaio.**

6 Advertências e precauções

- Para uso **em diagnóstico In Vitro**.
- Os reagentes **R1** e **R2** são disponibilizados como um conjunto e não devem ser trocados por reagentes de lotes com número diferente.

7 Recolha da amostra e preparação para a análise

- É necessário soro ou plasma. De modo geral é aceite uma amostra estável em concentração mínima (pré-dose) como muito consistente para a monitorização terapêutica do fármaco de topiramato. Deve anotar-se a hora da recolha de sangue desde a última dose.
- Não deve ser utilizado sangue total. Os seguintes anticoagulantes podem ser usados neste ensaio.
 - Heparina de sódio
 - Heparina de lítio
 - Potássio EDTA
- **NÃO UTILIZE SEPARADORES DE GEL.**
- Não induza a formação de espuma e evite congelamento e descongelamento repetidos para preservar a integridade da amostra desde o momento da recolha até ao momento em que for utilizado no ensaio.
- Fibrina, células sanguíneas vermelhas, e outros materiais particulados podem causar um resultado incorreto. Assegure uma centrifugação adequada.
- Amostras clarificadas podem ser armazenadas por até uma semana de 2 a 8°C. Se o teste for atrasado por mais de uma semana, as amostras podem ser armazenadas congeladas ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) por até quatro semanas antes de serem testados. Deve-se tomar cuidado no sentido de limitar o número de ciclos de congelamento-descongelamento.
- **Manuseie todas as amostras dos pacientes como se fossem potencialmente infecciosos.**

8 Procedimento

Materiais fornecidos

Ensaio Topiramato ARK – **REF** 5015-0001-00

Materiais necessários – Fornecidos em separado

Calibrador Topiramato ARK – **REF** 5015-0002-00

Controlos de qualidade – Controlo Topiramato ARK – **REF** 5015-0003-00

Instrumentos

Pode ser necessário transferir os reagentes **R1** e **R2** para recipientes específicos do analisador antes da utilização. Evite a contaminação cruzada de **R1** e **R2**.

Sequência do ensaio

Para realizar ou calibrar o ensaio, consulte o manual específico do instrumento.

Calibração

Efetue um procedimento de calibração completa (6 pontos) utilizando os calibradores Topiramato ARK A, B, C, D, E e F. Teste os calibradores duas vezes. É necessária uma calibração para cada número de lote de reagente novo. Verifique a curva da calibração com no mínimo dois níveis de controlos da qualidade de acordo com o plano de garantia da qualidade de laboratório estabelecido. CAL A é o branco da calibração.

Quando recalibrar

- Sempre que sejam utilizados reagentes de um número de lote novo
- Sempre que seja indicado pelos resultados dos controlos da qualidade
- Sempre que seja requerido pelos protocolos laboratoriais padrão

Controle da Qualidade (CQ)

Os laboratórios devem estabelecer procedimentos de CQ para o Ensaio de Topiramato ARK. Todos os requisitos e testes de controlo da qualidade devem ser realizados em conformidade com os regulamentos locais, estaduais e/ou federais ou requisitos de acreditação.

As boas práticas de laboratório sugerem que no mínimo dois níveis (pontos de decisão médica baixo e alto) de controlo de qualidade sejam testados a cada dia em que amostras do paciente sejam ensaiadas e toda vez que a calibração for realizada. Monitore os valores de controlo para todas as tendências ou mudanças. Se forem detetados tendências ou mudanças, ou se o controlo não se recuperar dentro da gama especificada, revise todos os parâmetros operacionais de acordo com os seus procedimentos de

qualidade laboratoriais clínicos. Contacte o serviço de assistência ao cliente para obter mais ajuda.

Protocolo de diluição manual

Para estimar níveis do fármaco nas amostras que excedam 60 µg/mL, dilua a amostra manualmente com calibrador zero (CAL A). Multiplique o resultado do ensaio pelo fator de diluição.

$$\text{Fator de diluição manual} = \frac{(\text{volume da amostra} + \text{volume de CAL A})}{\text{Volume da amostra}}$$

9 Resultados

Registe as unidades do resultado como µg/mL ou µmol/L. Para converter resultados de µg/mL para µmol/L de topiramato, multiplique µg/mL por 2,95. O valor do topiramato deste ensaio deve ser utilizado junto com outras informações clínicas. Consulte o manual de instruções específico do operador para ver os códigos de erro dos resultados.

10 Limitações do procedimento

Este ensaio foi desenvolvido apenas para o uso com soro ou plasma. Consulte as secções **Recolha da amostra e preparação para análise e Características específicas de desempenho**.

11 Valores esperados

Não há gama terapêutica bem estabelecida para o topiramato. A gama terapêutica sugerida (amostra em concentração mínima) para o controlo de convulsão é de 2 a 25 µg/mL e existe uma correlação inconsistente entre os níveis de topiramato em circulação com a toxicidade, efeitos adversos e eficácia clínica.² Portanto, a monitorização da concentração do topiramato em pacientes está fundamentada.

As concentrações do medicamento topiramato devem ser usadas junto com as informações disponíveis a partir de avaliações clínicas e outros procedimentos diagnósticos. Os clínicos devem monitorizar os pacientes cuidadosamente durante o tratamento e ajustes de dosagem. A farmacocinética pode variar amplamente, em particular com co-medicação, idade e/ou função renal comprometida. Podem ser necessárias várias amostras ao longo do tempo para determinar concentrações estáveis para pacientes individuais.

12 Características específicas de desempenho

Os dados representam o desempenho em analisadores bioquímicos automatizados. Cada laboratório é responsável pela verificação do desempenho utilizando os parâmetros de instrumento estabelecidos para o seu analisador. As seguintes características de desempenho foram obtidas no sistema Roche/Hitachi 917.

Sensibilidade

Limite de Quantificação (LOQ)

O LOQ do Ensaio Topiramato ARK foi determinado de acordo com CLSI EP17-A e é definido como a concentração mais baixa para a qual se observa precisão inter-ensaio e uma recuperação aceitáveis (frequentemente considerado $\leq 20\%$ CV com recuperação $\pm 15\%$). O LOQ foi determinado como $1,5 \mu\text{g/mL}$ e pode depender do desempenho específico do analisador.

Gama do ensaio

O intervalo do ensaio é de $1,5$ a $54,0 \mu\text{g/mL}$. Registe resultados abaixo desta gama como $<1,5 \mu\text{g/mL}$ ou abaixo do LOQ inferior específico do analisador estabelecidos no seu laboratório. Registe resultados acima desta gama como $<54,0 \mu\text{g/mL}$ ou acima do LOQ inferior específico do analisador estabelecidos no seu laboratório.

Exatidão

A exatidão (recuperação analítica) foi realizada adicionando topiramato concentrado em soro humano sem topiramato. Um estoque concentrado de topiramato de alta pureza foi adicionado volumetricamente ao soro humano sem topiramato, representando as concentrações do fármaco em toda a gama do ensaio. Foram analisadas seis repetições de cada amostra em um analisador bioquímico automatizado. Foi calculada a média dos ensaios e comparada à concentração alvo e calculada a percentagem de recuperação. Os resultados são exibidos abaixo.

$$\% \text{ Recuperação} = 100 \times \frac{\text{Concentração recuperada média}}{\text{Concentração teórica}}$$

Concentração teórica (µg/mL)	Concentração recuperada média (µg/mL)	Percentagem de recuperação
1,5	1,4	95,6
2,5	2,7	106,7
4,0	4,2	104,2
5,0	5,3	106,0
6,0	6,4	106,7
10,0	10,4	103,8
15,0	15,5	103,4
30,0	30,8	102,6
45,0	47,3	105,0
55,0	58,9	107,1

Linearidade

Os estudos de linearidade foram realizados conforme sugerido no Protocolo CLSI/NCCLS EP6-A. Foi preparada uma amostra de 60,0 µg/mL de soro e foram feitas diluições proporcionais com soro humano sem topiramato. As concentrações de topiramato variaram entre 0,6 to 60,0 µg/mL. A linearidade em diluições específicas foi considerada aceitável quando a diferença percentual foi $\pm 10\%$ entre os valores regredidos de 1.^a e 2.^a ordem previstos. Foi demonstrada uma relação linear entre 1,2 e 54,0 µg/mL. Os resultados são exibidos abaixo.

Valor estimado (µg/mL)	Resultados (µg/mL)	Resultados previstos 1 ^a ordem	Resultados previstos 2 ^a ordem	% Diferença (critérios de aceitação: $\pm 10\%$)
0,6	0,5	0,56	0,46	-18,14
1,2	1,0	1,19	1,10	-7,42
1,8	1,7	1,83	1,75	-4,16
2,4	2,4	2,46	2,40	-2,60
3,0	3,0	3,09	3,04	-1,68
3,6	3,7	3,73	3,69	-1,09
4,2	4,4	4,36	4,33	-0,68
4,8	4,9	4,99	4,98	-0,38
5,4	5,8	5,63	5,62	-0,15
6,0	6,3	6,26	6,26	0,02
12,0	12,9	12,60	12,68	0,64
18,0	18,9	18,94	19,06	0,66
24,0	25,5	25,28	25,41	0,53
30,0	31,4	31,61	31,72	0,33
36,0	37,9	37,95	37,99	0,11
42,0	44,8	44,29	44,23	-0,14
48,0	50,7	50,63	50,43	-0,39
54,0	56,5	56,96	56,60	-0,65
60,0	62,3	63,30	62,73	-0,91

Comparação de métodos

Foram realizados estudos de correlação usando o Protocolo CLSI/NCCLS EP7-A2. Os resultados do ensaio de topiramato ARK foram comparados com os resultados dum imunoensaio FPIA disponível comercialmente. As concentrações de topiramato variaram entre 1,5 to 53,4 µg/mL. Os resultados da análise de regressão Passing-Bablok⁴ para o estudo são exibidos abaixo.

Inclinação	0,99
Interceção y	- 0,17
Coeficiente de correlação (r ²)	0,99
Número de amostras	113

Precisão

A precisão foi determinada conforme descrito no Protocolo CLSI/NCCLS EP5-A2. No estudo foram utilizados controlos em três níveis contendo topiramato. Cada nível do controlo foi ensaiado em quadruplicado duas vezes ao dia durante 20 dias. As execuções num dia foram separadas por no mínimo duas horas. Foram calculados valores dentro da execução, dentro do dia, SD total, e CVs percentuais. Os resultados são exibidos abaixo. Critérios de aceitação: <10% CV total.

Amostra	N	Médio (µg/mL)	Dentro da execução		No dia		Total	
			SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
1	160	2,4	0,08	3,5	0,05	2,0	0,10	4,3
2	160	10,2	0,24	2,4	0,14	1,4	0,28	2,7
3	160	40,2	1,19	2,9	0,64	1,6	1,29	3,2

Substâncias interferentes

Foram realizados estudos de interferência usando o Protocolo CLSI/NCCLS EP7-A2 como diretiva. Foram avaliadas concentrações clinicamente altas das seguintes substâncias interferentes no soro com níveis conhecidos de topiramato (aproximadamente 5 e 20 µg/mL). Cada amostra foi ensaiada utilizando Ensaio Topiramato ARK, junto com um controlo do topiramato no soro. A medição do topiramato resultou num erro de ≤10% na presença de substâncias interferentes nos níveis testados.

Substância	Concentração
------------	--------------

interferente	interferente
Albumina	12 g/dL
Bilirrubina	60 mg/dL
Colesterol	301 mg/dL
Gamaglobulina	10 g/dL
Hemoglobina	1000 mg/dL
Heparina	200 Unidades/mL
Fator Reumatóide	1000 IU/mL
Triglicerídeos	1105 mg/dL
Ácido úrico	25 mg/dL

Especificidade

A reatividade cruzada foi testada para um metabólito conhecido do topiramato. Outros medicamentos administrados rotineiramente com topiramato e medicamentos antiepiléticos também foram testados a fim de determinar se estes compostos afetam a quantificação das concentrações de topiramato com a utilização do Ensaio Topiramato ARK. Níveis altos destes compostos foram adicionados em *pools* de soro contendo níveis terapêuticos baixos (5 µg/mL) e altos (20 µg/mL) de topiramato. As amostras foram analisadas e as concentrações de topiramato das amostras contendo interferentes foram comparadas ao soro de controlo.

Metabólitos

Metabólitos do topiramato são basicamente encontrados na urina de pacientes que estejam recebendo tratamento com topiramato.³ É improvável que os resultados do Ensaio Topiramato ARK sejam afetados pelo metabolismo do fármaco topiramato, já que os níveis de plasma de metabólitos geralmente não são clinicamente relevantes. O seguinte metabólito foi testado com relação à reatividade cruzada.

Metabólito	Metabólito Conc. (µg/mL)	Percentagem da reatividade cruzada		Percentagem da interferência	
		Baixo Topiramato	Alto Topiramato	Baixo Topiramato	Alto Topiramato
9-Hidróxi-Topiramato	40,0	1,2	1,6	8,6	3,2

Interferência medicamentosa

Anticorpos seletivos de topiramato não apresentaram reação cruzada com outros medicamentos antiepiléticos ou co-administrados testados. Administrou-se uma concentração alta de cada composto em soro humano normal com níveis conhecidos de topiramato (aproximadamente 5 e 20 µg/mL) e ensaiados junto com um controlo de topiramato no soro. A medição do topiramato resultou num erro de $\leq 10\%$ na presença de compostos medicamentosos nos níveis testados.

Composto	Concentração (µg/mL)	Composto	Concentração (µg/mL)
Acetaminofeno	50	Levetiracetam	200
Acetazolamida	50	Metisergida	100
Alprazolam	20	Metoprolol	100
Amitriptilina	10	Nadolol	150
Ácido acetilsalicílico	100	Naproxeno	600
Atenolol	50	Nimodipino	100
Cafeína	100	Nortriptilina	10
Carbamazepina	100	Oxcarbazepina	50
Clortalidona	100	Fenelzina	15
Clonazepam	50	Fenobarbital	40
Clorazepato	20	Fenitoína	50
Diazepan	50	Primidona	100
Diclorfenamida	40	Protriptilina	20
Etosuximida	500	Ácido salicílico	750
Famotidina	50	Sulfanilamida	2000
Felbamato	500	Tiagabina	200
Flurazepam	20	Tolbutamida	750
Furosemida	10	Ácido Valpróico	200
Gabapentina	100	Verapamil	100
Hidroclorotiazida	60	Vigabatrina	150
Ibuprofeno	500	Zonisamida	200
Lamotrigina	100		

13 Referências

1. OrthoMcNeil Pharmaceutical, Inc. *Topamax*® monograph, Raritan, NJ Revision Date August 2004; www.topamax.com
2. Johannessen, S. I. et al. 2003. Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Antiepileptic Drugs. *Ther Drug Monit.* **25**:347-63.
3. Britzi M, Perucca E, Soback S. et al. 2005. Pharmacokinetic and Metabolic Investigation of Topiramate Disposition in Healthy Subjects in the Absence and in the Presence of Enzyme Induction by Carbamazepine. *Epilepsia* **46**:378-84.
4. Bablok W, Passing H, Bender R, Schneider B. 1988. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part III. *J. Clin Chem Clin Biochem* **26**(11):783-90.

14 Marcas registradas

ARKTM é marca registrada da **ARK** Diagnostics, Inc.

Outras marcas e nomes de produtos são marcas registradas dos seus respectivos proprietários.

Patente EUA n° 5.952.187



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Impresso nos EUA
Revisão em Julho de 2023
1600-0105-00PT Rev 06