

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.

Comunique ao fabricante qualquer incidente grave que tenha ocorrido relativamente ao dispositivo, assim como à autoridade competente adequada. Um resumo da segurança e do desempenho está disponível através da EUDAMED (base de dados europeia sobre dispositivos médicos), SRN: US-MF-000023925.





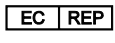





Serviço de atendimento ao cliente


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


2797
EC REP

Emergo Europe
 Westervoortsedijk 60
 6827 AT Arnhem
 The Netherlands

Símbolos utilizados

	Código do lote	 YYYY-MM-DD	Consumir até/Data de validade
	Número do catálogo		Fabricante
	Representante autorizado	 2797	Marcação CE com número do organismo notificado
	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 homogéneo 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 homogéneo 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 de fármaco proveniente da amostra, a actividade enzimática aumenta, sendo directamente proporcional à concentração do fármaco. A enzima activa converte a coenzima nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) para NADH, o que é medido por espectrofotometria como taxa de alteração da absorvância. A G6PDH endógena presente no soro não interfere nos 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 adenina dinucleótido, soroalbumina bovina, conservantes e estabilizadores	1 X 28 mL
	Reagente R2 – Enzima epítipo de topiramato classificado com G6PDH bacterial, tampão, soroalbumina bovina, conservantes e estabilizadores	1 X 14 mL

*Anticorpos são produzidos seletivamente á parte epítopa 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 **diagnóstico *in vitro***, utilização laboratorial profissional.
- Requer prescrição médica. *Atenção: A lei federal dos EUA restringe a venda deste dispositivo por um médico ou profissional devidamente autorizado.*
- 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

- Cada laboratório é responsável por fornecer uma amostra válida para análise segundo os respectivos procedimentos de qualidade.
- É necessário soro ou plasma. Para garantir a consistência, é uma boa prática usar a mesma matriz de amostra para cada paciente. 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
- A colheita de sangue terá de ser efectuada com tubos de colheita compatíveis para uso com a monitorização terapêutica do fármaco (TDM).
- Siga as recomendações do fabricante do tubo para a colheita, processamento e centrifugação.
- O documento GP44-A4 do CLSI descreve os procedimentos para a minimização de artefactos devido à colheita e manuseamento de amostras para as análises laboratoriais frequentes.²

- 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.
- A presença de bolhas ou espuma nas amostras pode levar a uma aplicação curta da amostra e a resultados erroneamente baixos.
- Cada laboratório deve consultar a literatura disponível e os dados internos relativos à estabilidade das amostras.
- Com base nos estudos realizados pela ARK Diagnostics, as amostras clarificadas podem ser armazenadas a 2-8°C até uma semana. Se o teste for adiado mais de uma semana, as amostras devem ser conservadas congeladas ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) até quatro semanas antes da análise. Recomenda-se a limitação do número de ciclos de congelamento e 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**.

Muitos analisadores automatizados de química clínica com determinação fotométrica da taxa a 340 nm são adequados. Consulte a folha da aplicação específica do analisador para a programação do Ensaio de topiramato ARK, disponível junto do seu distribuidor ou da Assistência ao Cliente da ARK. As Folhas de Protocolo de Aplicação que foram classificadas pela CLIA ou que ostentam a marca CE foram verificadas pelo fabricante. O laboratório tem a responsabilidade de proceder a toda a validação adequada para a utilização do ensaio com outras configurações ou outros analisadores.

Consulte o manual do operador específico do instrumento quanto à manutenção diária.

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 de calibração com pelo menos dois níveis de controlos de qualidade, conforme o plano de garantia de qualidade laboratorial definido. O calibrador A é o branco de 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 os níveis de fármaco em amostras que excedam 54 µg/mL, diluir manualmente a amostra com o calibrador zero (CAL A). Multiplicar 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 $\mu\text{g/mL}$ ou $\mu\text{mol/L}$. Para converter resultados de $\mu\text{g/mL}$ para $\mu\text{mol/L}$ de topiramato, multiplique $\mu\text{g/mL}$ 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. Existe uma correlação inconsistente entre os níveis de topiramato circulante e a toxicidade, os efeitos adversos ou a eficácia clínica.³ Por conseguinte, justifica-se a monitorização da concentração de topiramato nos doentes.

Foram propostos vários intervalos de referência para o controlo das crises, que incluem concentrações mínimas de amostra de 5 a 20 $\mu\text{g/mL}$ (15 a 60 $\mu\text{mol/L}$)³⁻⁶ e 2 a 10 $\mu\text{g/mL}$ ⁷ em neuropsicofarmacoterapia. Recomenda-se a monitorização do topiramato durante e após a gravidez.⁸

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 ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração recuperada média ($\mu\text{g/mL}$)	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

Realizaram-se estudos de linearidade conforme sugerido no Protocolo EP6-Ed2 do CLSI. Preparou-se uma amostra de soro a 60,0 µg/mL, fazendo-se diluições proporcionalmente com soro humano negativo para topiramato. As concentrações de topiramato estiveram entre 1,8 e 54 µg/mL. A linearidade foi demonstrada entre 1,8 e 54,0 µg/mL com um desvio não superior a 12% da linearidade. Os resultados são apresentados na seguinte tabela.

Valor nominal (µg/mL)	Média (µg/mL) (N=6)	Desvio da linearidade (µg/mL)	% de desvio da linearidade
1.8	1.7	-0.21	-11.3%
2.4	2.4	-0.11	-4.6%
3.0	3.0	-0.14	-4.4%
3.6	3.7	-0.04	-1.0%
4.2	4.4	0.07	1.7%
4.8	4.9	-0.03	-0.6%
5.4	5.8	0.20	3.6%
6.0	6.3	0.05	0.7%
18.0	18.9	0.25	1.4%
30.0	31.4	0.35	1.1%
42.0	44.8	1.32	3.0%
54.0	56.5	0.65	1.2%

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- Bablok⁹ para o estudo são exibidos abaixo.

Inclinação	0,99
Interceção y	- 0,17
Coefficiente 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		Dentro do laboratório	
			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 interferente	Concentração 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
Triglicérideos	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 ≤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. *Topamax® Prescribing Information* [Ficha Técnica do Topamax®]. 2009. Janssen Pharmaceuticals Inc. (Titusville, NJ); www.topamax.com.
2. CLSI. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline—Fourth Edition*. [Procedimentos para o manuseamento e processamento de amostras de sangue para análises laboratoriais frequentes; Orientações aprovadas — Quarta edição.] *CLSI document GP44-A4* [documento GP44-A4 CLSI]. Wayne, PA: *Clinical and Laboratory Standards Institute* [Instituto de normas clínicas e laboratoriais]; 2010.
3. Johannessen, S. I. et al. 2003. *Therapeutic Drug Monitoring of the Newer Antiepileptic Drugs* [Monitorização terapêutica dos novos fármacos antiepilépticos]. *Ther Drug Monit.* **25**:347-63.
4. Johannessen Landmark, C. et al. 2020. *Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs: current status and future prospects* [Monitorização terapêutica dos medicamentos antiepilépticos: situação atual e perspectivas futuras]. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **16**, 227–238.
5. Patsalos, P. N. et al. 2008. *Antiepileptic drugs – best practice guidelines for therapeutic drug monitoring* [Medicamentos antiepilépticos - diretrizes de boas práticas para a monitorização terapêutica de medicamentos]: *A position paper by the subcommission on therapeutic drug monitoring, ILAE Commission on Therapeutic Strategies* [Um documento de posição da subcomissão de monitorização de medicamentos terapêuticos, Comissão de Estratégias Terapêuticas da ILAE]. *Epilepsia* **49**:1239-1276.
6. Patsalos, P. N. et al. 2018. *Therapeutic drug monitoring of antiepileptic drugs in epilepsy* [Monitorização terapêutica dos fármacos antiepilépticos na epilepsia]: A 2018 update. *Ther Drug Monit* **40**:526-548.
7. Hiemke, C. et al. 2018. *Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology* [Diretrizes de consenso para a monitorização terapêutica de medicamentos em neuropsicofarmacologia]: Update 2017. *Pharmacopsychiatry* **51**:9-62.
8. Arfman, I. J. et al. 2020. *Therapeutic Drug Monitoring of Antiepileptic Drugs in Women with Epilepsy Before, During, and After Pregnancy*

[Monitorização terapêutica de fármacos antiepilépticos em mulheres com epilepsia antes, durante e após a gravidez]. *Clin. Pharmacokinet.* **59**, 427–445.

9. Bablok, W., Passing, H., Bender, R., and Schneider, B. 1988. *A general regression procedure for method transformation* [Um procedimento geral de regressão para a transformação de métodos]. *Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry* [Aplicação de procedimentos de regressão linear para estudos de comparação de métodos em química clínica]. Part III. *J. Clin Chem Clin Biochem* **26**:783-90.
10. Britzi, M. 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* [Investigação Farmacocinética e Metabólica da Disposição de Topiramato em Indivíduos Saudáveis na Ausência e na Presença de Indução Enzimática por Carbamazepina]. *Epilepsia* **46**:378-84.

14 Marcas registadas

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

Outras marcas e nomes de produtos são marcas registadas dos seus respetivos proprietários.

Patente EUA n° 5.952.187



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 USA

Revisão em Março de 2025
1600-0105-00PT Rev 07