

# Dosaggio CEDIA™ per la teofillina II

**IVD** Per uso diagnostico in vitro

**Rx Only**

**REF** 100008 (17 mL, 17 mL Kit)

## Uso previsto

Il dosaggio CEDIA™ per la teofillina II è un dispositivo medico-diagnostico in vitro per la quantificazione della teofillina in siero o plasma umano. Le misurazioni vengono utilizzate nella diagnosi e nel trattamento del sovradosaggio di teofillina e nel monitoraggio dei livelli di teofillina al fine di garantire la terapia appropriata.

## Sommario e spiegazione del metodo

La teofillina è un derivato della metilxantina, ampiamente usato per il trattamento dell'asma, della pneumopatia ostruttiva e dell'apnea neonatale.<sup>1</sup>

L'effetto della teofillina è strettamente correlato alla concentrazione del farmaco nel siero; il range terapeutico della teofillina va da 10 a 20 µg/mL negli adulti<sup>2</sup> e da 5 a 10 µg/mL nei neonati per il trattamento dell'apnea.<sup>3</sup> Gli effetti tossici della teofillina si verificano solitamente a concentrazioni superiori a 20 µg/mL negli adulti<sup>4,7</sup>, sebbene sintomi lievi possano comparire a concentrazioni superiori a 15 µg/mL. Fra questi effetti vi sono anoressia, nausea, vomito, cefalee e nervosismo. Effetti collaterali gravi, come aumento della frequenza cardiaca, aritmia, crisi cerebrali e arresto respiratorio o cardiaco si verificano solitamente a concentrazioni superiori a 40 µg/mL, ma possono manifestarsi anche a concentrazioni inferiori.

È estremamente importante monitorare le concentrazioni di teofillina nel siero, poiché i tassi di clearance della teofillina possono variare da individuo a individuo.<sup>8,9</sup> L'eliminazione della teofillina è più lenta nei pazienti obesi, nei pazienti con malattie epatiche e nei pazienti che seguono un regime alimentare povero di proteine e ricco di carboidrati. I neonati prematuri hanno tassi di eliminazione della teofillina molto bassi.<sup>4</sup> Al contrario, la teofillina viene eliminata con maggiore rapidità dai fumatori di sigarette.<sup>2</sup> Il monitoraggio dei livelli sierici di teofillina deve essere associato ad altri dati clinici in modo da offrire al medico le informazioni necessarie per assisterlo nella regolazione del dosaggio in base alle esigenze del paziente per ottenere l'effetto terapeutico ottimale, evitando le dosi tossiche.

Il dosaggio CEDIA per la teofillina II è un immunodosaggio enzimatico omogeneo che si avvale della tecnologia del DNA ricombinante (brevetto USA n. 4708929).<sup>10</sup>

Il dosaggio è basato sull'enzima batterico β-galattosidasi, geneticamente suddiviso in due frammenti inattivi. Questi frammenti si riassociano spontaneamente per formare un enzima pienamente attivo in grado di legarsi, nel formato del dosaggio, ad un substrato, dando luogo ad una variazione cromatica misurabile spettrofotometricamente.

Nel dosaggio, l'analita presente nel campione compete con l'analita coniugato al frammento inattivo di β-galattosidasi per il sito di legame anticorpale. Se l'analita è presente nel campione, si lega all'anticorpo, lasciando i frammenti enzimatici inattivi liberi di formare l'enzima attivo. Se l'analita non è presente nel campione, l'anticorpo si lega all'analita coniugato sul frammento inattivo, inibendo la riassociazione dei frammenti inattivi di β-galattosidasi, e quindi la formazione dell'enzima attivo.

La quantità di enzima attivo formata e la risultante variazione di assorbanza sono direttamente proporzionali alla quantità di analita presente nel campione.<sup>10</sup>

## Reagenti

- 1 Tampono di ricostituzione per EA:** contiene MOPS (tampono acido 3-[N-morfolino]propanosolfonico), 150 mg/L di anticorpo monoclonale anti-teofillina, stabilizzante e conservante.
- 1a Reagente EA:** contiene 0,171 g/L di accettore enzimatico, sali tampone e conservante.
- 2 Tampono di ricostituzione per ED:** contiene MES (tampono acido 2-[N-morfolino]etanosolfonico), stabilizzanti e conservante.
- 2a Reagente ED:** contiene 0,06 mg/L di donatore enzimatico coniugato con teofillina, 1,637g/L di rosso di clorofenolo-β-D-galattopiranoside e conservante.

**Ulteriori materiali necessari (venduti separatamente):**

**REF**

100007

**Descrizione del kit**

CEDIA Core TDM Multi-Cal

Controllo(i) commerciale(i) - Rivolgersi al servizio di assistenza tecnica per ottenere raccomandazioni relative ai materiali di controllo idonei.

## ⚠ Avvertenze e precauzioni

**PERICOLO:** il reagente in polvere contiene ≤ 56% p/p di albumina sierica bovina (BSA) e ≤ 2% p/p di sodio azide. Il reagente liquido contiene ≤ 1,0% p/p di siero bovino, ≤ 0,3% p/p di sodio azide e ≤ 0,1% di anticorpo specifico del farmaco (topo).

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossico.

Non respirare polveri, nubi, vapori e spray. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. **IN CASO DI INALAZIONE:** se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

## Preparazione e conservazione dei reagenti

Per la preparazione delle soluzioni per gli analizzatori Hitachi, vedere più avanti. Per tutti gli altri analizzatori, consultare il foglio delle applicazioni specifico per l'analizzatore in dotazione.

Estrarre il kit dal frigorifero appena prima della preparazione delle soluzioni.

Preparare le soluzioni nel seguente ordine per ridurre al minimo la possibilità di contaminazione.

**Soluzione R2 di donatore enzimatico:** collegare il flacone 2a (reagente per ED) al flacone 2 (tampono di ricostituzione per ED) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a si trasferisca nel flacone 2. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 2a e l'adattatore dal flacone 2 e gettarli. Tappare il flacone 2 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25°C). Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o nel frigorifero (2-8°C) e lasciar riposare per 5 minuti prima dell'uso.

**Soluzione R1 di accettore enzimatico:** collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 (tampono di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a si trasferisca nel flacone 1. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 1a e l'adattatore dal flacone 1 e gettarli. Tappare il flacone 1 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a 15-25°C. Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o nel frigorifero (2-8°C) e lasciar riposare per 5 minuti prima dell'uso.

**NOTA 1:** i componenti forniti in questo kit sono previsti per l'uso concomitante. Non mescolare tra loro componenti di lotti diversi.

**NOTA 2:** per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, non scambiare tra loro i tappi dei diversi flaconi. La soluzione R2 deve essere di colore giallo arancio. La comparsa di un colore rosso o rosso porpora indica la contaminazione del reagente, che va quindi eliminato.

**NOTA 3:** prima dell'esecuzione del dosaggio, le soluzioni R1 e R2 vanno portate alla temperatura dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

**NOTA 4:** per garantire la stabilità della soluzione EA ricostituita, non esporla per un periodo prolungato all'azione diretta di forti sorgenti luminose.

Conservare i reagenti a 2-8°C. **NON CONGELARLI.** Per il periodo di stabilità dei componenti non aperti, vedere la data di scadenza sulla confezione o sulle etichette dei flaconi.

**Soluzione R1:** 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

**Soluzione R2:** 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

## Raccolta e trattamento del campione

Campioni di siero o plasma (trattati con Na o Li eparina, o Na EDTA) sono idonei per l'uso con il dosaggio. Non provocare la formazione di schiuma ed evitare di congelare e scongelare ripetutamente per mantenere l'integrità del campione dal momento in cui viene prelevato fino al momento dell'analisi. Centrifugare i campioni che contengono sostanze particolose. Tappare i campioni, conservarli a 2-8°C e analizzarli entro una settimana. Se il campione va spedito, tapparli e mantenerlo congelato. Conservare i campioni a -20°C e analizzarli entro 4 settimane. **Trattare tutti i campioni dei pazienti come se fossero potenzialmente infettivi.**

## Procedura di analisi

Ai fini del presente dosaggio è possibile utilizzare gli analizzatori chimici in grado di mantenere una temperatura costante, pipettare i campioni, miscelare i reagenti, misurare i tassi enzimatici e regolare con precisione i tempi di reazione. Fogli delle applicazioni riportanti i parametri specifici per ciascun analizzatore sono disponibili presso la Microgenics, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.

**NOTA:** se l'analizzatore non riesce a leggere il codice a barre, la sequenza numerica dell'etichetta con codice a barre può essere immessa manualmente dalla tastiera.

## Controllo di qualità e calibrazione<sup>11</sup>

Si consiglia di eseguire la calibrazione a due punti

- prima di usare nuovi flaconi di reagenti
- prima di usare un nuovo lotto di reagenti
- come necessario, in ottemperanza alle procedure di controllo della qualità

Verifica della calibrazione: non necessaria.

Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi di almeno due livelli (punti di decisione medici alto e basso) di controllo della qualità ogni giorno in cui si esegue l'analisi dei campioni dei pazienti e ad ogni calibrazione. Monitorare i valori di controllo per individuare eventuali tendenze o deviazioni. Se si individuano tendenze o deviazioni, o se il controllo non recupera una quantità di farmaco entro il range specificato, esaminare tutti i parametri operativi. Per ulteriore assistenza e consigli sul materiale di controllo più adatto, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica. Tutti i requisiti di controllo della qualità vanno soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

## Risultati e valori attesi

Il dosaggio CEDIA per la teofillina II è indicato per la quantificazione di campioni di pazienti con concentrazioni comprese tra 0,8 µg/mL e 40 µg/mL.

I campioni indicanti quantità superiori a 40 µg/mL possono essere riportati come > 40 µg/mL o possono essere diluiti (una parte di campione e una parte di calibratore basso) e rianalizzati. Il valore ottenuto da questa nuova analisi deve essere derivato secondo la formula seguente.

Valore effettivo = (2 x valore diluito) - concentrazione del calibratore basso

I campioni che danno valori inferiori alla concentrazione minima rilevabile dal dosaggio devono essere riportati come < 0,8 µg/mL.

Utilizzare il seguente fattore di conversione per convertire µg/ml in µmol/L:

$$\mu\text{g/mL} \times 5,55 = \mu\text{mol/L}$$

$$\mu\text{mol/L} \times 0,18 = \mu\text{g/mL}$$

Per i livelli terapeutici e tossici della teofillina, come riferimento si possono usare i seguenti dati pubblicati.

Ricercatore	Range Terapeutico µg/mL	Range Tossico µg/mL
Mitenko and Ogilvie <sup>12</sup>	5-20	
Buelow et al. <sup>13</sup>	8-20	
Hendeles and Weinberger <sup>2</sup>	10-20	
Weinberger and Bronsky <sup>14</sup>	8-20	
Aranda et al. <sup>3</sup>	5-15	
Ogilvie <sup>4</sup>		> 20
Jacobs et al. <sup>5</sup>		> 20

## Limitazioni

1. L'incidenza di pazienti con anticorpi anti-E. coli β-galattosidasi è estremamente bassa. Tuttavia, alcuni campioni che contengono questi anticorpi possono dare risultati artificialmente elevati che non rientrano nel profilo clinico.
2. Data la reattività crociata con l'acido 1,3-dimetilurico, il dosaggio CEDIA per la teofillina II non va usato per la quantificazione di campioni di pazienti uremici.<sup>15-19</sup>
3. Come con qualsiasi dosaggio che impiega anticorpi murini, esiste la possibilità che gli anticorpi umani anti-murini (HAMA) interferiscano nel campione, generando risultati falsamente elevati.

## Caratteristiche specifiche del rendimento del test

Le caratteristiche di rendimento del test tipiche ottenibili mediante l'analizzatore Hitachi 911 sono riportate qui di seguito.<sup>20</sup> I valori ottenuti dai diversi laboratori possono essere differenti da quelli riportati in questa sede. Per ulteriori dati specifici di rendimento, consultare il protocollo delle applicazioni specifico per l'analizzatore in dotazione.

## Precisione

Studi di precisione misurata condotti con reagenti e sieri di controllo confezionati hanno dato i seguenti risultati in µg/mL mediante la metodica di replicazione NCCLS modificata.

	Precisione Intra-analisi			Precisione Totale		
	n	120	120	120	120	120
$\bar{x}$ (µg/mL)	5,1	15,1	29,3	5,1	15,1	29,3
SD (µg/mL)	0,2	0,3	0,4	0,26	0,36	0,59
CV%	3,3	1,9	1,3	5,1	2,4	2,0

## Confronto tra metodi

Un confronto tra il dosaggio CEDIA per la teofillina II (y) e un'analisi immunologica a polarizzazione di fluorescenza (x) disponibile in commercio ha dato la seguente correlazione (µg/mL).

### Regressione di Deming

$$y = 1,01x - 0,41$$

$$r = 0,997$$

$$S_{y,x} = 0,47$$

### Regressione lineare

$$y = 1,01x - 0,38$$

$$r = 0,997$$

$$S_{y,x} = 0,67$$

Numero di campioni misurati: 125

Le concentrazioni dei campioni erano comprese tra 0,9 e 37,4 µg/mL.

## Linearità

Un campione alto è stato diluito con il calibratore basso. La percentuale di recupero è stata poi determinata dividendo il valore osservato per il valore atteso.

% Campione Alto	Valore Atteso (µg/mL)	Valore Osservato (µg/mL)	% Recupero
100,0	-	46,9	-
90,0	42,2	42,1	100
80,0	37,5	38,3	102
70,0	32,8	33,6	102
60,0	28,1	29,5	105
50,0	23,5	24,9	106
40,0	18,8	19,9	106
30,0	14,1	14,5	103
20,0	9,4	9,6	102
10,0	4,7	4,4	93,6
0,0	-	0,0	-

## Recupero

Un campione di teofillina alto (teofillina aggiunta ad un campione di teofillina basso, corretto entro il 10% del range di analisi) è stato diluito con un campione privo di analita. La percentuale di recupero è stata poi determinata dividendo il valore osservato per il valore atteso.

% Campione Alto	Valore Atteso (µg/mL)	Valore Osservato (µg/mL)	% Recupero
100,0	-	46,3	-
90,0	41,7	42,3	101
80,0	37,1	38,2	103
70,0	32,5	34,3	106
60,0	27,9	29,8	107
50,0	23,2	25,1	108
40,0	18,6	20,0	108
30,0	14,0	14,8	106
20,0	9,4	10,0	106
10,0	4,8	4,7	100
0,0	-	0,1	-

### Specificità

I seguenti composti sono stati analizzati per rilevare l'eventuale reattività crociata.

Composto	Concentrazione Analizzata (µg/mL)	Reattività Crociata %
Acido 1,3,7-trimetilurico	1.000	0,5
Acido 1,3-dimetilurico	200	9,8
Acido 1,7-dimetilurico	1.000	0,1
1,7-Dimetilxantina	1.000	1,8
Acido 1-metilurico	1.000	0,1
1-Metilxantina	1.000	1,3
Acido 3,7-dimetilurico	1.000	0,5
Acido 3-metilurico	1.000	0,2
3-Metilxantina	1.430	1,4
7-(2-idrossietil) teofillina	1.430	1,4
7-(b-idrossipropil) teofillina	1.818	1,1
Acido 7-metilurico	1.000	< 0,08
7-Metilxantina	1.000	0,2
8-Cloroteofillina	360	5,6
Allopurinolo	1.000	0,1
Ampicillina	2.000	< 0,08
Caffeina	645	3,1
Clindamicina	2.000	< 0,08
Diprofillina	2.000	0,7
Eparina	2.000	< 0,08
Fenobarbitale	2.000	< 0,08
Ipxantina	1.000	< 0,08
Prednisone	2.000	< 0,08
Pseudoefedrina	2.000	< 0,08
Sultiame	1.000	< 0,08
Terbutalina	2.000	< 0,08
Teobromina	800	2,5
Urea	2.000	< 0,08
Acido urico	1.000	< 0,08
Xantina	1.000	< 0,08
Xantosina	1.000	< 0,8

Le seguenti sostanze non hanno dimostrato alcuna interferenza con il dosaggio CEDIA per la teofillina II.

Sostanza	Concentrazione	Sostanza	Concentrazione
Bilirubina	≤ 66 mg/dL	Proteine totali	≤ 12,9 g/dL
Emoglobina	≤ 1.000 mg/dL	Trigliceridi	≤ 1,0 g/dL

### Sensibilità

La concentrazione minima rilevabile del dosaggio CEDIA per la teofillina II è di 0,8 µg/mL (4,4 µmol/L). Questo valore è stato determinato calcolando la concentrazione della teofillina in grado di fornire una risposta pari a due deviazioni standard superiori a quella del calibratore basso.

### Bibliografia

1. Rall TW, The xanthines. In: Gilman, A.G., Goodman, L.S. and Gilman, A. eds: The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan Publishing Company, 1980: 592-607.
2. Hendeles L, Weinberger MM: Theophylline therapeutic use and serum concentration monitoring. In: Taylor WJ, Finn AL, eds: Individualizing Drug Therapy: Practical Applications of Drug Monitoring. New York: Gross Townsend Frank, Inc., 1981: vol 1, pp 31-66.
3. Aranda JV, Sitar DS, Parsons WD, Loughnan PM, Neims AH: Pharmacokinetic aspects of theophylline in premature newborns. New England Journal of Medicine 1976; 295: 413-416.
4. Ogilvie RI: Clinical pharmacokinetics of theophylline. Clinical Pharmacokinetics 1978;3:267-293.
5. Jacobs MH, Senior RM, Kessler G: Clinical experience with theophylline. Relationships between dosage, serum concentration, and toxicity. Journal of the American Medical Association 1976;235: 1983-1986.
6. Weinberger MW, Matthay RA, Ginchansky EJ, Chidsey CA, Petty TL: Intravenous aminophylline dosage. Use of serum theophylline measurement for guidance. Journal of the American Medical Association 1976;235: 2110-2113.
7. Zwillich CW, Sutton FD, Neff TA, Cohn WM, Matthay RA, Weinberger MM: Theophylline-induced seizures in adults. Correlation with serum concentrations. Annals of Internal Medicine 1975;82: 784-787.
8. Piafsky KM, Ogilvie RI: Drug therapy. Dosage of theophylline in bronchial asthma. New England Journal of Medicine 1975;292: 1218-1222.
9. Leung P, Kalisher A, Bell TD: Variation in theophylline clearance rate with time in chronic childhood asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology 1977;59: 440-444.
10. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA: CEDIA, a New Homogeneous Immunoassay System. Clin Chem 1986;32(9): 1637-1641.
11. Dati sulla tracciabilità sono disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.
12. Mitenko, P.A. and Ogilvie, R.I.: Rational intravenous doses of theophylline. New England Journal of Medicine 1973b;289: 600-603.
13. Buelow KB, Larsson H, Leideman T: Plasma theophylline level and ventilatory function in chronic obstructive pulmonary disease during prolonged oral treatment with choline theophyllinate. European Journal of Clinical Pharmacology 1975;8: 119-123.
14. Weinberger MM, Bronsky EA: Evaluation of oral bronchodilator therapy in asthmatic children. Journal of Pediatrics 1974;84: 421-427.
15. Breiner R, McComb Lewis S, Wong, SHY, Marzouk N, Kapke GF: Positive interference with immunoassay of theophylline in serum of uremics, letters to the editor. Clin. Chem. 1985;31:1575-1577.
16. Nelson KM, Mathews SE, Bowers LD: Theophylline concentrations may be falsely high in serum or uremic patients (letter to the editors). Clin Chem 1983;29: 2125-2126.
17. Nicot G, Charnes JP, Lachatre G, Sautereau D, Valette JP, Eichler E, Leroux-Robert C: Theophylline toxicity risks and chronic renal failure. Int J Clin Pharmacol 1989;27: 398-401.
18. Opein KE, Ainardi V, Raisys VA, Smith CM, Messenfer LJ: Increase in apparent theophylline concentration in the serum of two uremic patients as measured by some immunoassay methods (caused by 1,3-dimethyluric acid?) (letters to the editors). Clin Chem 1983;29:1698-1699.
19. Patel JA, Clayton LT, LeBel CP, McClatchey KD: Abnormal theophylline levels in plasma by fluorescence polarization immunoassay in patients with renal disease. Ther. Drug Monit. 1984;6:458-460.
20. Dati disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.

### Glossario:

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



Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA  
Assistenza tecnica e assistenza  
alla clientela negli USA:  
1-800-232-3342



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



Per gli aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare:  
[www.thermofisher.com/diagnostics](http://www.thermofisher.com/diagnostics)

### Altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.