

 IMMULITE[®]
2000

Theophylline

DPC[®]

IMMULITE[®] 2000 Theophylline

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of theophylline in serum, as an aid in monitoring the therapeutic administration of this bronchodilator.

Catalog Numbers: **L2KTN2** (200 tests), **L2KTN6** (600 tests)

Test Code: **THE** Color: **Light Green**

CDC Analyte Identifier Code: 6104

CDC Test System Identifier Code: 10418

CLIA Complexity Category: Moderate

Summary and Explanation

Theophylline is a methylxanthine derivative which is widely used clinically for its bronchodilator activity in the treatment of respiratory conditions such as asthma. As a bronchodilator, theophylline appears to exert its effect on the smooth muscle of the bronchi. Theophylline is a competitive inhibitor of the enzyme cyclic nucleotide phosphodiesterase, an enzyme that catalyzes the conversion of cyclic adenosine monophosphate (cAMP) to 5'-adenosine monophosphate (5'-AMP).¹ Mechanisms other than phosphodiesterase inhibition have been suggested to mediate the bronchodilator effect of theophylline.² Other methylxanthines which have measurable crossreactivity — such as caffeine, theobromine, and 8-chlorotheophylline — occur in coffee, tea, soft drinks, chocolate, and certain over-the-counter medications such as dimenhydrinate.

The importance of measuring theophylline concentrations is related to the relatively narrow therapeutic index for theophylline as well as the inter- and intra-patient variability in the disposition of theophylline. There exists a window of concentrations below which theophylline levels are subtherapeutic, and above which there is an increased incidence of toxic side effects, such as gastrointestinal disturbances, tachycardia, cardiac arrhythmias, convulsions and coma.^{3,4,5}

Patients with the same theophylline levels will not necessarily experience the same therapeutic or toxic effects. Variability in the disposition of theophylline results in widely varying serum concentrations in patients receiving the same dose.^{6,7} Theophylline is excreted primarily via metabolism in the liver as 1-methyluric acid, 1,3-dimethyluric acid, and methylxanthines.⁸ Factors which affect liver metabolism — such as smoking, extremes of age, concomitant drug therapy, alcoholism, and diet — can lead to either subtherapeutic or toxic theophylline concentrations in a patient receiving a dosage which would be effective in the absence of these conditions.

Another source of variation results from the specific dosage formulation employed and the route of administration.⁹ This variation exists in part due to the low solubility characteristics of theophylline as well as to the wide variety of sustained-release dosage formulations which are used. Intravenously, theophylline is administered as aminophylline, which is a complex of two theophylline molecules with one mole of ethylenediamine to enhance solubility.

Therapeutic levels are generally regarded to be between 10 and 20 µg/mL,¹⁰ although levels between 5 and 10 µg/mL may still be effective in certain individuals.¹¹ Toxic levels are generally considered to be greater than 20 µg/mL.

Circulating theophylline levels generally reach a plateau or steady state upon administration of a fixed daily dosage. A serum theophylline level should not be assumed to reflect the steady-state concentration unless a continuous fixed dosage has been administered for at least 3 to 5 half-lives for theophylline.¹⁵ Although the average *in vivo* half-life for theophylline in adults is 4.5 hours, it varies widely in this population (3 to 9.5 hours) and is significantly shorter in children (mean 3.6 hours, range 1.5 to 9.5 hours).¹⁰ The following diseases and conditions have been implicated in altering the pharmacokinetics of theophylline: congestive heart failure, respiratory viral infections, liver disease, and renal

disease.¹⁶ Concomitant use or discontinuation of the following drugs may also affect theophylline pharmacokinetics: cimetidine, barbiturates, erythromycin, troleandomycin, phenytoin and allopurinol.^{16,17} Consult the manufacturer's package insert for the theophylline drug product and the potentially interfering drug product for further information.

Principle of the Procedure

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

Incubation Cycles: 1 × 30 minutes.

Specimen Collection

The time of collection is important. In order to obtain theophylline samples which accurately reflect pharmacological levels in the patient, guidelines should be followed with respect to sampling times and the interpretation of results. Samples should not be taken immediately following dosage, during absorption and distribution of the drug. Following oral dosage with solid formulation, samples should be drawn 4 hours post-dose to allow for complete absorption and distribution.¹² Following intravenous administration or oral administration with a liquid formulation, samples may be drawn 1 hour post-dose.¹³ In premature infants given rectal administration of aminophylline, samples may be drawn two hours post-dose.¹⁴ Consistent sampling times with respect to dosing appropriate for each clinical setting should be employed.

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 Theophylline 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.

Storage: 7 days at 2–8°C or 2 months at –20°C.

SST Tubes: Manufacturer's studies have shown that Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes may cause elevations in values for therapeutic drug assays.

Dilution of High Samples: All samples expected to have levels above the assay's calibration range should be diluted before assay with an untreated patient sample.

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.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

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.

Theophylline Bead Pack (L2TN12)

With barcode. 200 beads, coated with polyclonal rabbit anti-theophylline antibody. Stable at 2–8°C until expiration.

date.

L2KTN2: 1 pack. **L2KTN6:** 3 packs.

Theophylline Reagent Wedge (L2TNA2)

With barcode. 11.5 mL of alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to theophylline, in buffer.

Stable at 2–8°C until expiration date.

L2KTN2: 1 wedge. **L2KTN6:** 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.

Theophylline Adjustors (LTNL, LTNH)

Two vials (Low and High), 4 mL each, of theophylline in processed human serum, with preservative. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

L2KTN2: 1 set. **L2KTN6:** 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, adjustment, assay and quality control procedures.

Recommended Adjustment Interval:
2 weeks.

Quality Control Samples: Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of theophylline.

Therapeutic Range

As is indicated in the Summary and Explanation section, therapeutic levels are generally regarded to be between 10 and 20 µg/mL,¹⁰ although levels between 5 and 10 µg/mL may still be effective in certain individuals.¹¹ Toxic levels are generally considered to be greater than 20 µg/mL.

Limitations

A complete understanding of the information contained in this package insert is necessary for proper use of this product.

The specificity table should be consulted for a list of substances which have measurable crossreactivity in this assay. Other medications and/or food not found on this list may nevertheless crossreact in the assay.

The following should be considered in the interpretation of the theophylline concentration:

- All concurrent medications taken by the patient
- The time of sampling in relation to the dosing history
- Existing diseases or conditions

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 µg/mL. (Unless

otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without gel barriers or clot-promoting additives.)

Calibration Range: 1 – 60 µg/mL

Analytical Sensitivity: 0.3 µg/mL

Precision: Samples were processed 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 theophylline solutions (125, 250 and 500 µg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

Specificity: The antibody is highly specific for theophylline. (See "Specificity" table.)

Method Comparison: The assay was compared to DPC's IMMULITE Theophylline assay on 155 patient samples. (Concentration range: approximately 1 to 60 µg/mL. See graph.)
By linear regression:

(IML 2000) = 0.98 (iML) + 0.73 µg/mL
r = 0.992

Means:
27.0 µg/mL (IMMULITE 2000)
26.7 µg/mL (IMMULITE)

Alternate Sample Types: To assess the effect of alternate sample types, blood was collected from 40 volunteers into plain, heparinized, EDTA and Becton Dickinson SST[®] vacutainer tubes. Equal volumes of the matched samples were spiked with various concentrations of theophylline, to obtain values throughout the calibration range of the assay, and then assayed by the IMMULITE 2000 Theophylline procedure. By linear regression:

(Heparin) = 0.86 (Serum) + 1.8 µg/mL
r = 0.970

(EDTA) = 0.90 (Serum) + 2.5 µg/mL
r = 0.964

(SST) = 1.09 (Serum) + 0.5 µg/mL
r = 0.990

Means:
28.8 µg/mL (Serum)
26.5 µg/mL (Heparin)
28.4 µg/mL (EDTA)
31.8 µg/mL (SST)

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.

Hemolysis: Presence of hemoglobin in concentrations up to 512 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

Lipemia: Presence of tryglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL has no effect on results, within the precision of the assay.

References

Butcher RW, Sutherland EW. Adenosine 3',5'-phosphate in biological materials. *J Biol Chem* 1962;237:1244-50. 2) Isles AF, MacLeod SM, Levison H. Theophylline. New thoughts about an old drug. *Chest* 1982;82:49S-54S. 3) Hendeles L, et al. Frequent toxicity from IV aminophylline infusions in critically ill patients. *Drug Intel Clin Pharmacol* 1977;11:12-8. 4) Jacobs MH, Senior RM, Kessler G. Clinical experience with theophylline. *JAMA* 1976;235:1983-6. 5) Zwillich CW, Sutton FD, Neff TA, et al. Theophylline-induced seizures in adults; correlation with serum concentrations. *Ann Intern Med* 1975;82:784-7. 6) Weinberger MW, et al. Intravenous aminophylline dosage; use of serum theophylline measurement for guidance. *JAMA* 1976;235:2110-3. 7) Kordash TR, Van Dellen RG, McCall JT. Theophylline concentrations in asthmatic patients after administration of aminophylline. *JAMA* 1977;238:139-41. 8) Piafsky KM, Ogilvie RI. Dosage of theophylline in bronchial asthma. *New Engl J Med* 1975;292:1218-22. 9) Weinberger M, Hendeles L. Slow-release theophylline; rationale and basis for product selection. *New Engl J Med* 1983;308:760-4. 10) Webb-Johnson DC, Andrews JL. Bronchodilator therapy. *New Engl J Med* 1977;297:476-82 and 758-64. 11) Lesko LJ. In: Benet LZ, et al, editors. *Pharmacokinetic basis for drug treatment*. New York: Raven Press, 1984: 321-424. 12) Pribor HC, Morrell G. *Lab Management* 1977(Feb):14. 13) Hendeles L, Weinberger M, Johnson G. Monitoring serum theophylline levels. *Clin Pharmacokinetics* 1978;3:294-312. 14) Neese AL, Soyka LF. Development of radioimmunoassay for theophylline. *Clin Pharmacol Therapeut* 1977;21:633-42. 15) Rowe DJF, et al. The clinical use and measurement of theophylline. *Ann Clin Biochem* 1988;25:4-26. 16) Gibaldi M, Perrier D. *Pharmacokinetics*. In: *Drugs and the pharmaceutical sciences*. New York: Marcel Dekker, 1975: 97. 17) Reitberg DP, Bernhard H, Schentag JJ. Alteration of theophylline clearance and half-life by cimetidine in normal volunteers. *Ann Intern Med* 1981;95:582-5.

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 (µg/mL)

	Mean ³	Within-Run ¹		Total ²	
		SD ⁴	CV ⁵	SD	CV
1	0.99	0.12	12.1%	0.13	13.4%
2	5.32	0.47	8.9%	0.42	7.9%
3	12.2	0.73	6.0%	0.72	6.0%
4	22.0	1.86	8.5%	1.88	8.5%
5	47.4	1.95	4.1%	2.81	5.9%

Linearity (µg/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	8 in 8 ⁵	8.53	—	—
	4 in 8	4.72	4.27	111%
	2 in 8	2.07	2.13	97%
	1 in 8	1.28	1.07	120%
2	8 in 8	12.0	—	—
	4 in 8	6.20	6.0	103%
	2 in 8	3.05	3.0	102%
	1 in 8	1.40	1.5	94%
3	8 in 8	25.3	—	—
	4 in 8	12.3	12.7	97%
	2 in 8	6.69	6.33	106%
	1 in 8	3.12	3.16	99%
4	8 in 8	39.7	—	—
	4 in 8	19.9	19.9	100%
	2 in 8	9.58	9.93	96%
	1 in 8	5.70	4.96	115%
5	8 in 8	38.5	—	—
	4 in 8	19.3	19.3	100%
	2 in 8	9.40	9.63	98%
	1 in 8	5.52	4.81	115%

Recovery (µg/mL)

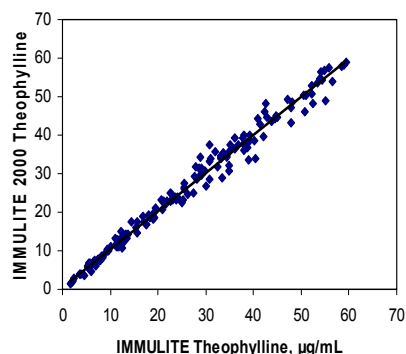
	Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	1.60	—	—
	A	7.94	7.77	102%
	B	13.9	14.0	99%
	C	24.4	26.5	92%
2	—	2.62	—	—
	A	9.10	8.74	104%
	B	14.9	15.0	99%
	C	26.1	27.5	95%
3	—	5.71	—	—
	A	11.5	11.7	98%
	B	17.1	17.9	96%
	C	27.9	30.4	92%
4	—	10.3	—	—
	A	15.1	16.0	94%
	B	23.4	22.3	105%
	C	33.2	34.8	95%
5	—	17.9	—	—
	A	22.6	23.3	97%
	B	28.9	29.5	98%
	C	38.2	42.0	91%

Specificity

Compound ¹	µg/mL Added ²	Apparent µg/mL ³	% Cross-reactivity ⁴
Caffeine	1,000	3.62	0.4%
Acetamidophenol	1	ND	ND
3,7 Dimethyluric	1	ND	ND
1-Methylxanthine	1	ND	ND
1-Methyluric Acid	1	ND	ND
3-Methyluric Acid	1	ND	ND
1,3,7-Trimethyluric Acid	1	ND	ND
Phenobarbital	1	ND	ND
Theobromine	1	ND	ND

ND: not detectable⁵

Method Comparison



(IML 2000) = 0.98 (IML) + 0.73 µg/mL
r = 0.992

Deutsch. Precision: ¹Intra-Assay, ²Gesamt, ³Mittelwert, ⁴S (Standardabweichung), ⁵CV (Variationskoeffizient). Linearity: ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Lösung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. Specificity: ¹Verbindung, ²zugesezte Menge, ³Gemessene Konzentration, ⁴% Kreuzreaktivität, ⁵NN: Nicht nachweisbar. Method Comparison: Theophylline: Theophyllin.

Español. Precision: ¹Intraensayo, ²Total, ³Media, ⁴DS, ⁵CV. Linearity: ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 en 8. Recovery: ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E. Specificity: ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³Concentración aparente, ⁴% Reacción cruzada, ⁵ND: no detectable. Method Comparison: Theophylline: Teofilina.

Français. Precision: ¹Intraessai, ²Total, ³Moyenne, ⁴SD, ⁵CV. Linearity: ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A, ⁵8 dans 8. Recovery: ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴% O/A. Specificity: ¹Composé, ²ajouté, ³Concentration apparente, ⁴Réaction croisée %. ⁵ND: non détectable. Method Comparison: Theophylline: Théophylline.

Italiano. Precision: ¹Intra-serie, ²Totale, ³Media, ⁴SD (Deviazione Standard), ⁵CV (Coefficiente di Variazione). Linearity: ¹Diluizione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A, ⁵8 in 8. Recovery: ¹Soluzione, ²Osservato (O), ³Atteso (A), ⁴% O/A. Specificity: ¹Composto, ²quantità aggiunta, ³Concentrazione apparente, ⁴Percentuale di Crossreattività, ⁵ND: non determinabile. Method Comparison: Theophylline: Teofilina.

Português. Precision: ¹Entre-ensaios, ²Total, ³Média, ⁴Desvio padrão, ⁵Coefficiente de variação. Linearity: ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴% O/E, ⁵8 em 8. Recovery: ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E),

⁴% O/E. Specificity: ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Apparent Concentration, ⁴Percentagem de reacção cruzada, ⁵ND: não detectável. Method Comparison: Theophylline: Teofilina.

Deutsch

IMMULITE 2000 Theophyllin

Anwendung: Zur in vitro Diagnostik unter Verwendung des IMMULITE 2000 Systems — für die quantitative Bestimmung von Theophyllin im Serum, als Hilfsmittel in der Therapieüberwachung dieses Bronchodilatators.

Artikelnummern: **L2KTN2** (200 Tests), **L2KTN6** (600 Tests)

Testcode: **THE** Farbe: **hellgrün**

Klinische Relevanz

Theophyllin ist ein Methylxanthin-Derivat, das aufgrund seiner bronchodilatatorischen Eigenschaften in der Klinik häufig in der Therapie respiratorischer Erkrankungen, z.B. Asthma, eingesetzt wird. Als Bronchospasmolytikum entfaltet es seine Aktivität hauptsächlich an der glatten Muskulatur der Bronchien. Theophyllin ist ein kompetitiver Inhibitor der Phosphodiesterase, das die Konversion von cAMP zu 5'-AMP katalysiert.¹ Für den bronchodilatatorischen Effekt sind allerdings andere Mechanismen als die Phosphodiesterase-Hemmung verantwortlich.² Andere Methylxanthine mit messbarer Kreuzreaktivität sind Coffein, Theobromin und 8-Chlorotheophyllin, die in Kaffee, Tee, Softdrinks und in einigen freiverkäuflichen Medikamenten (z.B. Dimenhydrinat) vorkommen.

Sowohl der relativ enge therapeutische Bereich als auch eine hohe Intra- und Inter-Patienten Variabilität machen die Messung des Theophyllins zur Therapiekontrolle unumgänglich. Unterhalb des optimalen Bereichs sind die Theophyllin Konzentrationen subtherapeutisch, oberhalb ist mit toxischen Nebenwirkungen wie gastrointestinalen Beschwerden, Tachykardie, Herzrhythmusstörungen, Krämpfen und Koma zu rechnen.^{3,4,5}

Patienten mit identischen Theophyllin Spiegeln zeigen nicht notwendigerweise die gleichen therapeutischen bzw. toxischen Effekte. Trotz gleicher applizierter Theophyllindosis können die Serumkonzentrationen von Patient zu Patient sehr unterschiedlich sein.^{6,7}

Theophyllin wird hauptsächlich in der Leber zu 1-Methyl-Harnsäure, 1,3-Dimethyl-Harnsäure und Methylxanthinen metabolisiert.⁸ Faktoren, die den Lebermetabolismus beeinflussen — wie Rauchen, sehr alte Patienten, begleitende Arzneimitteltherapie, Alkoholismus, Diät - können zu subtherapeutischen oder toxischen Theophyllin Konzentrationen führen. Ohne diese Faktoren würde die Dosierung durchaus effektiv sein.

Darreichungsform und Applikationsart des Medikaments beeinflussen ebenfalls Serumkonzentration und Wirkung, einmal durch die schlechte Löslichkeit des Theophyllins zum anderen durch eine Vielzahl retardierter Formen bedingt.⁹ Intravenös wird Theophyllin als Aminophyllin appliziert. Hierbei handelt es sich um einen Komplex aus 2 Theophyllinmolekülen mit einem Molekül Ethylendiamin wodurch die Löslichkeit verbessert wird.

Der therapeutische Bereich wurde zwischen 10–20 µg/ml ermittelt,¹⁰ wobei auch Spiegel zwischen 5–10 µg/ml bei bestimmten Patienten effektiv sind.¹¹ Über 20 µg/ml kann man generell von toxischen Konzentrationen ausgehen.

Durch Gabe einer fixen täglichen Dosis erreichen die zirkulierenden Theophyllin Konzentrationen ein Plateau oder „Steady State“. Erst nach der kontinuierlichen Gabe über 3–5 Halbwertszeiten kann die „Steady-State“ Theophyllin Konzentration sicher ermittelt werden.¹⁵ Die mittlere in-vivo Halbwertszeit für Theophyllin beträgt beim Erwachsenen 4,5 Stunden bei einer breiten Variation von 3 bis 9,5 Stunden. Bei Kindern liegt die Halbwertszeit deutlich niedriger (Mittelwert 3,6 Stunden, Bereich 1,5 bis 9,5 Stunden).¹⁰ Folgende Erkrankungen können die Pharmakokinetik des Theophyllins beeinflussen: Stauungsherz, virale Infekte des Respirationstraktes, Leber- und Nierenerkrankungen.¹⁶ Die gleichzeitige Einnahme oder das Absetzen folgender Medikamente können die Pharmakokinetik des Theophyllins ebenfalls beeinflussen:

Cimetidin, Barbiturate, Erythromycin, Troleandromycin, Phenytoin und Allopurinol.^{16,17} Nähere Hinweise sind den Gebrauchsinformationen der Theophyllin Arzneimittel oder der evtl. störenden Arzneimittel zu entnehmen.

Methodik

Der IMMULITE 2000 Theophyllin ist ein Festphasen, Enzym-markierter, kompetitiver Chemilumineszenz Immunoassay.

Inkubationszyklen: 1 × 30 min.

Probengewinnung

Der Zeitpunkt der Probenentnahme, insbesondere der Abstand zur letzten Dosisgabe ist wichtig und bei der Interpretation der Werte zu berücksichtigen. Um Theophyllin-Proben zu erhalten, die akkurat den pharmakologischen Spiegel reflektieren, sollten einige Richtlinien beachtet werden. Die Proben dürfen nicht direkt nach Dosisgabe oder während der Adsorptions- bzw. Distributionsphase entnommen werden. Nach oraler Gabe in Tablettenform sollten die Probenentnahme 4 Stunden nach der Einnahme erfolgen, damit die vollständige Absorption und Verteilung des Wirkstoffs abgeschlossen ist.¹² Nach intravenöser oder oraler Applikation in flüssiger Form sollten die Proben 1 Stunde nach Applikation entnommen werden.¹³ Nach rektaler Applikation von Aminophyllin bei frühreifen Kindern soll die Probenentnahme 2 Stunden nach Gabe erfolgen.¹⁴ Gleichmäßige Abnahmezeiten unter Berücksichtigung der für die jeweilige klinische Fragestellung relevanten Dosierung sollten eingehalten werden.

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 mit Vorsicht 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 Antikoagulantien-therapie 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 Theophyllin sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum.

Lagerung: 7 Tage bei 2–8°C oder 2 Monate bei –20°C.

SST-Röhrchen: Studien des Herstellers haben gezeigt, dass die Verwendung von Becton Dickinson SST® Vacutainer Geltrennröhrchen zu erhöhten Werten in Arzneimittelassays führen kann.

Verdünnung von Proben hoher

Konzentration: Proben, deren erwartete Ergebnisse größer als der Messbereich sein können, sollten vor dem Einsetzen mit einer unbehandelten Patientenprobe verdünnt werden.

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.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit

großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

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.

Theophyllin Kugel-Container (L2TN12)

Barcodiert. 200 Kugeln, beschichtet mit Theophyllin-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

L2KTN2: 1 Container.

L2KTN6: 3 Container.

Theophyllin Reagenzbehälter (L2TNA2)

Barcodiert. 11,5 ml alkalische Phosphatase konjugiert mit Theophyllin in Puffer. Bei 2–8°C bis zum Verfallsdatum haltbar.

L2KTN2: 1 Behälter.

L2KTN6: 3 Behälter.

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

Theophyllin Kalibratoren (LTNL, LTNH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) à 4 ml, mit Theophyllin in prozessiertem humanem Serum, mit Konservierungsstoffen. Nach dem Öffnen 30 Tage bei 2–8°C, sonst 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

L2KTN2: 1 Set. **L2KTN6:** 2 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Glasröhrchen 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: Arzneimittel-Kontrollmodul in drei Konzentrationen

Ebenfalls benötigt

Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser; Teströhrchen; 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.

Qualitätskontrollseren: Kontrollen oder Poolseren mit Theophyllin in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

Therapeutischer Bereich

Wie im Kapitel "Klinische Relevanz" beschrieben, liegen therapeutische Spiegel zwischen 10 und 20 µg/ml,¹⁰ obwohl auch schon Konzentrationen zwischen 5 und 10 µg/ml¹¹ bei einzelnen Individuen therapeutisch wirksam sind. Als toxische Spiegel werden generell Werte > 20 µg/ml angesehen.

Grenzen der Methode

Zur ordnungsgemäßen Verwendung dieses Produkts ist es erforderlich, dass die Informationen in dieser Packungsbeilage vollständig verstanden werden.

Bitte entnehmen Sie der Spezifitätstabelle jene Substanzen, die eine messbare Kreuzreaktivität in diesem Testsystem aufweisen. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass auch andere, in dieser Auflistung nicht

enthaltene Medikamente und/oder Lebensmittel zu einer Kreuzreaktivität im Assay führen.

Die folgenden Punkte sollten bei der Interpretation der Theophyllin-Konzentration berücksichtigt werden:

- Alle vom Patienten gleichzeitig eingenommenen Medikamente
- Zeitpunkt der Probenentnahme im Verhältnis zum Dosierungsverlauf
- Bestehende Krankheiten bzw. Zustandsbilder

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen 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 (µg/mL ausgedrückt. (Alle Daten wurden - sofern nicht anders angegeben - aus Serumproben in Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

Messbereich: 1 – 60 µg/ml

Analytische Sensitivität: 0,3 µg/ml

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: Proben wurden mit drei Theophyllin-Lösungen (125, 250 und 500 µg/ml) im Verhältnis 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

Spezifität: Hochspezifischer Theophyllin-Antikörper. (siehe Tabelle „Specificity“.)

Methodenvergleich: Der Assay wurde anhand von 155 Patientenproben mit dem IMMULITE Theophyllin Assay von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich: ca. 1 – 60 µg/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,98 (IML) + 0,73 µg/ml
r = 0,992

Mittelwerte:
27,0 µg/ml (IMMULITE 2000)
26,7 µg/ml (IMMULITE)

Alternativer Probentyp: Um den Einfluss von alternativen Probentypen zu überprüfen, wurde 40 Freiwilligen Blut in Röhrchen ohne Zusatz, Heparin-Röhrchen, EDTA-Röhrchen und in Becton Dickinson SST[®] Vacutainer-Röhrchen entnommen. Gleiche Volumen derselben Probe wurden mit verschiedenen Konzentrationen an Theophyllin versetzt, um Werte über den gesamten Kalibrationsbereich des Assays zu erhalten, und wurden anschließend mit dem IMMULITE 2000 Theophyllin Assay bestimmt. Durch lineare Regression:

(Heparin) = 0,86 (Serum) + 1,8 µg/ml
r = 0,970

(EDTA) = 0,90 (Serum) + 2,5 µg/ml
r = 0,964

(SST) = 1,09 (Serum) + 0,5 µg/ml
r = 0,990

Mittelwerte:
28,8 µg/ml (Serum)
26,5 µg/ml (Heparin)
28,4 µg/ml (EDTA)
31,8 µg/ml (SST)

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.

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

Lipämie: Triglyceride haben in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der

größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

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 Teofilina

Utilidad del análisis: Para el diagnóstico in vitro con el Analizador IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de teofilina en suero. Está estrictamente indicado para diagnóstico in vitro, como ayuda en la monitorización de la administración terapéutica de este broncodilatador.

Referencia: **L2KTN2** (200 tests),
L2KTN6 (600 tests)

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

Resumen y Explicación del Test

La Teofilina es un derivado de la metilxantina muy utilizado clínicamente por su actividad como broncodilatador en el tratamiento de ciertos procesos respiratorios como el asma. Como broncodilatador, la teofilina ejerce su efecto en la musculatura lisa de los bronquios. La Teofilina es un inhibidor competitivo de la enzima ciclo nucleotido fosfodiesterasa, enzima que cataliza la conversión ciclo adenosina monofosfato (cAMP) a 5'-adenosina monofosfato (5'-AMP).¹ Se han sugerido otros mecanismos mediadores de efecto broncodilatador aparte de la inhibición de la actividad fosfodiesterasa de la Teofilina.² Otras metilxantinas frente a las que se ha encontrado actividad cruzada — como la cafeína, teobromina, y 8-cloroteofilina — encontradas en el café, te, bebidas refrescantes, chocolate, y algunos medicamentos como dimentidrinato.

La importancia de la valoración de la concentración de teofilina está

estrechamente relacionada con su índice terapéutico así como la variabilidad inter- e intra-paciente en el tratamiento con teofilina. Existe una ventana de concentraciones por debajo de la cual los niveles de teofilina son subterapéuticos y por encima causan efectos tóxicos, como problemas gastrointestinales, taquicardia, arritmias, convulsiones y coma.^{3,4,5}

Pacientes con los mismos niveles de teofilina, no necesariamente experimentan los mismos síntomas, ni los mismos efectos terapéuticos o tóxicos. La variabilidad de los resultados en la dispensación de la teofilina varían la concentración en suero de los pacientes recibiendo la misma dosis.^{6,7} Teofilina es excretada principalmente vía hepática metabolizando ácido 1-metilurico, 1,3-dimetilurico y metilxantinas.⁸ Factores que afectan el metabolismo hepático — como tabaquismo, edad avanzada, efectos secundarios de drogas terapéuticas, alcoholismo y dieta — pueden causar efectos subterapéuticos o tóxicos de las concentraciones de teofilina en determinado paciente, las cuales podrían ser efectivas en ausencia de estas condiciones.

Otro mecanismo en la variación de los resultados a partir del empleo de una dosis específica es la vía de administración.⁹ Esta variabilidad viene dada en parte por la baja solubilidad de la teofilina y la variación de los excipientes utilizados para administrar la dosis. De forma intravenosa, la teofilina es administrada como aminofilina, la cual es un complejo de dos moléculas de teofilina con una molécula de etilen-diamina que mejora su solubilidad.

Los niveles terapéuticos generalmente se encuentran entre 10 y 20 µg/ml,¹⁰ Niveles entre 5 y 10 µg/ml pueden aún ser efectivos en ciertos individuos.¹¹ Niveles por encima de 20 µg/ml son generalmente considerados tóxicos.

Los niveles circulantes de teofilina generalmente alcanzan una meseta o estadio mantenido en la administración fijada de una dosis diaria. Un único nivel en suero de teofilina no servirá para asumir esta meseta de concentración a no ser, que la dosis fijada se hubiese administrado por al menos entre 3 a 5 veces la vida media de la teofilina.¹⁵

Aunque la media de la vida media de la teofilina *in vivo* en adultos es de 4,5 horas, puede variar en la población entre (3 a 9,5 horas) y es significativamente menor en niños (media 3,6 horas, rango 1,5 a 9,5 horas).¹⁰ Se ha visto la implicación en las siguientes situaciones y enfermedades en la alteración de la farmacocinética de la teofilina: fallo cardíaco congestivo, infecciones virales respiratorias, enfermedad hepática, y enfermedad renal.¹⁶ Efectos secundarios por el uso o discontinuación de los siguientes medicamentos pueden también afectar a la farmacocinética de la teofilina: cimetidina, barbitúricos, eritromicina, troleandromicina, fenitoina alopurinol.^{16,17} Consulte en el protocolo del fabricante del medicamento de teofilina para más información sobre potenciales interferencias de otros medicamentos.

Principio del análisis

El ensayo IMMULITE 2000 Teofilina es un inmunoensayo competitivo quimioluminescente en fase sólida.

Ciclos de incubación: 1 × 30 minutos.

Recogida de la muestra

El momento de recogida es importante. Para obtener muestras que reflejen de forma exacta los niveles farmacológicos de teofilina en el paciente, deben seguirse unas directrices sobre los momentos de muestreo e interpretación de resultados. No se deberán tomar muestras poco después de la administración, ni durante la absorción y distribución del fármaco. Tras la administración por vía oral con formas sólidas, deberían tomarse muestras 4 horas después, para permitir una absorción y distribución completa.¹² Tras la administración intravenosa, u oral con formulaciones líquidas, las muestras pueden obtenerse una hora después.¹³ En niños prematuros, a los que se administra aminofilina por vía rectal, las muestras pueden obtenerse dos horas después.¹⁴ Deberían emplearse momentos de toma de muestras en relación con la dosis para cada paciente.

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 Teofilina 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 Alternativas.

Volumen requerido: 50 µl serum.

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

Tubos SST: Los estudios del fabricante han mostrado que los tubos vacutainer Becton Dickinson SST® pueden causar elevaciones de los valores en ensayos de drogas terapéuticas.

Dilución de Muestras: Las muestras con niveles superiores al rango de calibración deben ser diluidas manualmente antes del ensayo con una muestra de paciente sin tratar.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Reactivos: Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo a la legislación en vigor.

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.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

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

Agua: Usar 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 Teofilina (L2TN12)

Con código de barras. 200 bolas de reacción, recubiertas con anticuerpo policlonal de conejo anti-teofilina. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.
L2KTN2: 1 cartucho **L2KTN6:** 3 cartuchos

Vial de Reactivo de Teofilina (L2TNA2)

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

L2KTN2: 1 vial. **L2KTN6:** 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 Teofilina (LTNL, LTNH)

Dos viales (Bajo y Alto), de 4,0 ml cada uno, de teofilina procesada en suero humano. Estable a 2–8°C durante 30 días una vez abierto, o durante 6 meses (alícuotados) a –20°C.

L2KTN2: 1 juego. **L2KTN6:** 2 juegos.

Antes de hacer un ajuste, 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: Dos niveles, control que contiene teofilina con base de suero humano.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

Ensayo

Nótese que para una óptima ejecución, es importante realizar los procedimientos de mantenimiento rutinario definidos en el manual del operador 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 sueros con al menos dos niveles (bajo y alto) de teofilina.

Intervalo Terapéutico

Como se indica en la sección Resumen y Explicación del test, los niveles terapéuticos suelen estar comprendidos entre 10 y 20 µg/ml,¹⁰ aunque niveles entre 5 y 10 µg/ml pueden ser efectivos en determinados individuos.¹¹ Los niveles tóxicos son generalmente superiores a 20 µg/ml.

Limitaciones

Es necesario un entendimiento completo de la información contenida en este protocolo para el correcto uso de este producto.

Debe consultarse la tabla de especificidad para ver una lista de sustancias que pueden mostrar una reactividad cruzada mensurable en este ensayo. Otras medicaciones y/o medicamentos que no se encuentren en esta lista pueden, sin embargo, dar una reactividad cruzada en el ensayo.

Deben considerarse los siguientes puntos en la interpretación de la concentración de gentamicina:

- Todas las medicaciones que el paciente esté tomando en ese momento
- El tiempo de la muestra en relación con la historia de dosificación
- Enfermedades o condiciones existentes

Los anticuerpos heterofilicos 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 µg/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.)

Intervalo de calibración: 1 – 60 µg/ml

Sensibilidad analítico: 0,3 µg/ml

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 ensayaron muestras 1 a 19 sobrecargadas con tres soluciones de teofilina (125, 250 y 500 µg/ml). (Ver la

tabla "Recovery" para resultados representativos).

Especificidad: El anticuerpo es altamente específico para teofilina. (Véase la tabla "Specificity".)

Comparación de los métodos: Se comparó el ensayo con un kit de Teofilina 155 muestras. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 1 a 60 µg/ml. Véase Gráfico 1.) Por regresión lineal:

(IML 2000) = 0,98 (IML) + 0,73 µg/ml
r = 0,992

Medias:
27,0 µg/ml (IMMULITE 2000)
26,7 µg/ml (IMMULITE)

Tipos de Muestra Alternativa: Para verificar el efecto del uso de tipos alternativos de muestras, se recogió sangre de 40 voluntarios en tubos vacuainers Becton Dickinson SST[®] vacíos o heparinizados. Se cargaron volúmenes iguales de las muestras con varias concentraciones de teofilina, para obtener valores distintos a lo largo de la curva de calibración de la técnica, y se ensayaron posteriormente con el kit de Teofilina de IMMULITE 2000. Por regresión lineal:

(Heparina) = 0,86 (Suero) + 1,8 µg/ml
r = 0,970

(EDTA) = 0,90 (Suero) + 2,5 µg/ml
r = 0,964

(SST) = 1,09 (Suero) + 0,5 µg/ml
r = 0,990

Medias:
28,8 µg/ml (Suero)
26,5 µg/ml (Heparina)
28,4 µg/ml (EDTA)
31,8 µg/ml (SST)

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina conjugada y libre en concentraciones hasta 200 mg/l no tiene efecto en el ensayo, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Hemólisis: La presencia de hemoglobina, en concentraciones hasta 512 mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Lipemia: La presencia de triglicéridos, en concentraciones hasta 3 000mg/dl, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

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 Théophylline

Domaine d'utilisation: Réservé à un usage diagnostic in vitro avec l'analyseur Immulite 2000 pour la mesure quantitative de la théophylline dans le sérum. Ce test constitue une aide au suivi de l'administration thérapeutique de ce bronchodilatateur.

Référence catalogue :

L2KTN2 (200 tests), **L2KTN6** (600 tests)

Code : **THE** Code couleur : **vert clair**

Introduction

La Théophylline est un dérivé de la méthylxanthine largement utilisée en clinique pour son action bronchodilatatrice dans le traitement des maladies respiratoires tel que l'asthme. Comme bronchodilatateur, la Théophylline exerce son action sur les muscles lisses des bronches. La Théophylline est un inhibiteur compétitif de la phosphodiesterase nucléotidique qui catalyse la conversion de l'adénosine monophosphate (cAMP) en 5'-adénosine monophosphate (5'-AMP).¹ D'autres mécanismes d'action ont été évoqués pour expliquer le rôle bronchodilatateur de la Théophylline.² Des méthylxanthines ayant une réactivité croisée mesurable, comme la théobromine, la caféine et la 8-chlorothéophylline, sont présentes dans le thé, le café, le chocolat et certaines boissons, enfin certaines médications ont un effet contraire comme le dimenhydrinate.

L'importance de la mesure de la concentration sérique de la Théophylline vient du fait que la zone thérapeutique est relativement étroite et que la biodisponibilité de la Théophylline est variable d'un sujet à l'autre et parfois chez un même patient. Il existe une fenêtre pour les concentrations en dessous de

laquelle les taux de Théophylline sont inefficaces et au-dessus de laquelle l'incidence d'effets toxiques secondaires surviennent tels que perturbations gastro-intestinales, tachycardie, arythmie cardiaque, convulsions et coma.^{3,4,5}

Des patients avec les mêmes taux de Théophylline n'auront pas nécessairement les mêmes effets thérapeutiques ou toxiques. Cette variabilité dans la biodisponibilité de la Théophylline résulte de la grande variabilité des concentrations sériques de Théophylline chez des patients recevant pourtant la même posologie.^{6,7} La Théophylline est métabolisée en premier lieu au niveau hépatique où elle est transformée en acide 1-méthylurique, en acide 1,3-diméthylurique et en méthylxanthines.⁸ Tout facteur affectant le métabolisme hépatique comme le tabac, le vieillissement, l'alcool, certains médicaments, l'alimentation, peuvent conduire à des concentrations de Théophylline inefficaces ou toxiques chez des patients pour lesquels la dose reçue serait parfaitement adéquate en dehors de ces conditions.

Une autre source de variabilité vient de la forme thérapeutique employée et de la voie d'administration utilisée.⁹ Cette variabilité est principalement due à la très faible solubilité de la Théophylline et à la grande variété de formes retardées qui sont utilisées. En intraveineux, la Théophylline est administrée sous forme d'aminophylline qui est un complexe de deux molécules de Théophylline associées à une mole d'éthylènediamine favorisant la solubilité.

La zone thérapeutique est généralement comprise entre 10 et 20 µg/ml,¹⁰ mais des taux de 5 à 10 µg/ml peuvent être encore efficaces chez certains patients.¹¹ Les effets toxiques surviennent généralement pour les taux supérieurs à 20 µg/ml.

Les taux circulants de Théophylline atteignent généralement un plateau ou restent stables lorsque l'administration de la dose quotidienne est fixe. Une concentration sérique de Théophylline ne doit pas être considérée comme le reflet d'un état stable tant qu'une posologie fixe et continue n'a pas été administrée pendant au moins 3 à 5 fois la demi-vie de la Théophylline.¹⁵ En moyenne la demi-

vie, in vivo, de la Théophylline chez un adulte est de 4,5 heures, mais cela peut varier de 3 à 9,5 heures. Cette demi-vie est plus courte chez les enfants et est en moyenne de 3,6 heures, variant de 1,5 à 9,5 heures.¹⁰ Certaines maladies et conditions peuvent altérer la pharmacocinétique de la Théophylline : l'insuffisance cardiaque, les infections virales respiratoires, les maladies hépatiques, et les atteintes rénales.¹⁶ Par ailleurs l'utilisation de certains médicaments peut également affecter la pharmacocinétique de la Théophylline : la cimétidine, les barbituriques, l'érythromycine, la Trileandromycine, la phénytoïne et l'allopurinol. Il est nécessaire de consulter la notice du fabricant de la forme de Théophylline employée, pour plus d'informations, afin de s'enquérir des possibilités d'interactions médicamenteuses.

Principe du test

IMMULITE 2000 Théophylline est un immunodosage chimiluminescent par compétition, enzymatique, en phase solide.

Cycles d'incubation : 1 × 30 minutes.

Recueil des échantillons

Le choix du moment du prélèvement est important. Pour obtenir des échantillons qui reflètent précisément le niveau de concentration pharmacologique en théophylline chez un patient, des règles précises doivent être suivies en ce qui concerne l'heure de prélèvement et l'interprétation des résultats. Les prélèvements ne doivent pas être réalisés immédiatement après la prise du médicament ni pendant la phase d'absorption et de distribution. Les prélèvements doivent être effectués quatre heures après la prise par voie orale sous forme solide pour permettre une absorption et une distribution complètes.¹² En cas d'administration par voie intraveineuse ou par voie orale sous forme liquide, attendre une heure avant le prélèvement.¹³ Les nouveau-nés prématurés, pour qui l'administration d'aminophylline est faite par voie rectale, peuvent être prélevés au bout de deux heures.¹⁴ Les heures de prélèvement en fonction de l'heure d'administration de la

Théophylline doivent être respectées dans chaque contexte clinique.

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 Théophylline 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.

Conservation : 7 jours à +2–8°C ou 2 mois à –20°C.

Tubes SST: Des études de fabricants ont montré que les tubes vacutainers Becton Dickinson SST® peuvent causer une élévation des valeurs pour les dosages des médicaments.

Dilution des échantillons élevés: Tous les échantillons suspectés d'avoir des concentrations supérieures au domaine de mesure du dosage doivent être dilués avant le dosage avec un échantillon de patient non traité.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : Conserver les réactifs à +2°/ +8 °C. Éliminer les déchets conformément aux lois 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.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

Substrat chimiluminescent : Éviter toute contamination et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

Eau : utiliser 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 Théophylline (L2TN12)

Avec code-barre. 200 billes, revêtues d'anticorps polyclonal de lapin anti-théophylline. Stable à +2/ +8 °C jusqu'à la date de péremption.

L2KTN2: 1 cartouche.

L2KTN6: 3 cartouches.

Cartouche à réactif Théophylline (L2TNA2)

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

L2KTN2: 1 cartouche.

L2KTN6: 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 de la dessus de la cartouche-réactif.

Ajusteurs Théophylline (LTNL, LTNH)

Deux flacons (bas et haut), 4 ml chacun, de théophylline dans du sérum humain prétraité, avec conservateur. Stable à +2–8°C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à –20°C.

L2KTN2: 1 jeu. **L2KTN6**: 2 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondantes 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.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; Contrôles.

Protocole de dosage

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.

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.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le Contrôle de

Qualité: Utiliser des pools de contrôles ou de sérums avec au moins deux niveaux (bas et haut) de théophylline.

Concentrations Thérapeutiques

Comme il est indiqué dans l'introduction, les concentrations thérapeutiques sont généralement comprises entre 10 et 20 µg/ml,¹⁰ bien que des niveaux entre 5 et 10 µg/ml puissent être efficaces chez certaines personnes.¹¹ Généralement, on considère une concentration toxique comme supérieure à 20 µg/ml.

Limites

Une compréhension complète du contenu de cette fiche technique est nécessaire pour une utilisation correcte de ce paramètre.

Le tableau de spécificité doit être consulté afin de prendre connaissance des substances pouvant donner des réactions croisées. D'autres médicaments et / ou des aliments non listés dans ce tableau peuvent néanmoins donner des réactions croisées avec ce test.

Avant d'interpréter tout résultat lors d'un dosage de Théophylline, il est nécessaire de considérer les points suivants :

- La prise concomitante d'autres médicaments
- L'heure du prélèvement en fonction de la posologie, du début et de la durée du traitement.
- Les maladies en cours existantes et certaines conditions de vie.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des 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 µg/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.)

Domaine de mesure : 1 – 60 µg/ml

Sensibilité analytique : 0,3 µg/ml

Précision : les échantillons sont dosés en duplicate sur une période qui s'étend sur 20 jours, avec deux séries par jours, soit 40 séries et 80 replicates 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 chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de théophylline (125, 250 et 500 µg/ml) ont été dosés. (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : L'anticorps utilisé est hautement spécifique de la théophylline. (Voir le tableau « Specificity ».)

Comparaison de méthodes: Ce test a été comparé au dosage IMMULITE Théophylline de DPC sur 155 échantillons de patients (intervalle de concentrations : environ de 1 à 60 µg/ml. Voir graphique.)
Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,98 (IML) + 0,73 µg/ml
r = 0,992

Moyennes :
27,0 µg/ml (IMMULITE 2000)
26,7 µg/ml (IMMULITE)

Autres types d'échantillons: Pour définir les effets d'Autres types d'échantillons, du sang de 40 volontaires a été prélevé sur tubes vacuaires secs, héparinés, EDTA et Becton Dickinson SST®. Des volumes égaux des ces divers échantillons ont été chargés avec différentes concentrations de théophyllines afin d'obtenir des valeurs comprises dans le domaine de mesure du dosage et ont ensuite été dosés avec la procédure IMMULITE 2000 Théophylline.
Par régression linéaire :

(Héparine) = 0,86 (Sérum) + 1,8 µg/ml
r = 0,970

(EDTA) = 0,90 (Sérum) + 2,5 µg/ml
r = 0,964

(SST) = 1,09 (Sérum) + 0,5 µg/ml
r = 0,990

Moyennes :
28,8 µg/ml (Sérum)
26,5 µg/ml (Héparine)
28,4 µg/ml (EDTA)
31,8 µg/ml (SST)

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.

Hémolyse : 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 tryglycérides ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 3 000 mg/dl.

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 Theophylline

Uso: Ad uso diagnostico in vitro con l'Analizzatore IMMULITE 2000 – per la misurazione quantitativa della teofillina nel siero, quale ausilio nel monitoraggio della somministrazione terapeutica di questo broncodilatatore.

Codice: **L2KTN2** (200 test),
L2KTN6 (600 test)

Codice: **THE** Colore: **verde chiaro**

Riassunto e spiegazione del Test

La Teofillina è un derivato della metilxantina largamente utilizzata a livello clinico per la sua attività broncodilatatrice nel trattamento delle affezioni respiratorie quali l'asma. Quale broncodilatatore, la teofillina esercita il proprio effetto sui muscoli lisci dei bronchi. La teofillina è un inibitore competitivo della fosfodiesterasi nucleotidica ciclica degli enzimi, un enzima che catalizza la conversione del monofosfato di adenosina ciclica (cAMP) in 5'-monofosfato di adenosina (5'-AMP).¹ E' stato riscontrato che meccanismi diversi dall'inibizione della fosfodiesterasi mediano l'effetto broncodilatatore della

teofillina.² Altre metilxantine che presentano crossreattività misurabili – quali la caffeina, la teobromina e la 8-cloroteofillina – si ritrovano nel caffè, nel tè, nelle bevande analcoliche, nel cioccolato ed in alcune medicine che si possono acquistare senza ricetta medica quali il dimenidrinato.

L'importanza di misurare le concentrazioni di teofillina è legato all'indice terapeutico relativamente ridotto per la teofillina cosiccome l'inter e l'intra variabilità paziente nella disposizione della teofillina. Esiste una finestra di concentrazioni al di sotto della quale i livelli di teofillina sono subterapeutici ed al di sopra dei quali vi è un'aumento nell'incidenza degli effetti collaterali tossici, quali disturbi gastrointestinali, tachicardia, aritmie cardiache, convulsioni e coma.^{3,4,5}

Pazienti con gli stessi livelli di teofillina non necessariamente avranno gli stessi effetti terapeutici o tossici. La variabilità nella disposizione della teofillina provoca un'ampia variazione nelle concentrazioni di siero in pazienti che ricevono la stessa dose.^{6,7} La teofillina viene secreta principalmente attraverso il metabolismo nel fegato come 1-acido metilurico, 1,3-acido dimetilurico e metilxantine.⁸ Fattori che intaccano il metabolismo del fegato – quali fumo, eccessi legati all'età, terapia farmacologica concomitante, alcolismo e dieta – possono determinare concentrazioni di teofillina subterapeutiche o tossiche in un paziente sottoposto ad un dosaggio efficace se non fossero presenti queste condizioni concomitanti.

Un'altra sorgente di risultati variabili da una formulazione di un dosaggio specifico che utilizza una route di somministrazione.⁹ Questa variazione esiste in parte dovuta alle basse caratteristiche di solubilità della teofillina cosiccome alla vasta gamma di dosaggi a rilascio sostenuto che vengono utilizzati. La teofillina è somministrata per endovenosa come aminofillina, un complesso di due molecole di teofillina con una mole di etilenediamina per aumentare la solubilità.

I livelli terapeutici sono generalmente tra 10 e 20 µg/mL¹⁰ benché i livelli tra 5 e 10 µg/mL possano essere efficaci in alcuni individui.¹¹ Livelli tossici sono

generalmente considerati superiori a 20 µg/mL.

I livelli di teofillina nel circolo raggiungono generalmente un plateau o uno stato costante in seguito a somministrazione di un dosaggio giornaliero fisso. Un livello di teofillina sierica non dovrebbe riflettere la concentrazione costante se non nel caso in cui una dose fissa sia stata somministrata per almeno 3–5 emi-vite della teofillina.¹⁵ Benché l'emi-vita media in vivo per la teofillina negli adulti sia di 4,5 ore, varia molto in questa popolazione (dalle 3 alle 9,5 ore) ed è significativamente più corta nei bambini (media 3,6 ore, range da 1,5 a 9,5 ore).¹⁰ Le malattie e condizioni cliniche di cui di seguito sono state implicate nell'alterazione della farmacocinetica della teofillina: congestione cardiaca, infezioni virali respiratorie, malattie epatiche, e renali.¹⁶ L'utilizzo concomitante o l'interruzione nella somministrazione dei seguenti farmaci può interessare la farmacocinetica della teofillina: cimetidina, barbiturici, eritromicina, troleandromicina, fenitoina e allopurinolo.^{16,17} Consultare la metodica della preparazione farmaceutica della teofillina e i corrispondenti farmaci che potrebbero interferire per ulteriori informazioni.

Principio del procedimento

Il dosaggio IMMULITE 2000 Teofillina è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza marcato con enzima in fase solida.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Raccolta dei campioni

L'ora del prelievo è importante. Per ottenere campioni di teofillina che riflettano accuratamente i livelli farmacologici nel paziente, debbono essere seguite linee guida in relazione ai tempi per il prelievo ed all'interpretazione dei risultati. Il prelievo non deve essere effettuato subito dopo la somministrazione della dose, durante l'assorbimento e la distribuzione del farmaco. Se il farmaco assunto per via orale è sotto forma di pastiglie, i campioni devono essere prelevati 4 ore post-dose per consentire un assorbimento ed una distribuzione completi.¹² Se il farmaco viene somministrato per endovenosa o per via

orale in forma liquida, i campioni possono essere prelevati 1 ora post-dose.¹³ Nei neonati prematuri cui è stata somministrata aminofillina per via rettale, i campioni possono essere prelevati 2 ore post-dose.¹⁴ Occorre rispettare scrupolosamente questi tempi di prelievo a seconda della via di somministrazione e della tipologia di farmaco somministrata.

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 del 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 Teofillina 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.

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

Provette SST: Studi effettuati dal produttore hanno evidenziato che le provette Becton Dickinson SST[®] vacutainer possono provocare aumenti nei valori nei dosaggi della sostanza

Diluizione dei Campioni Elevati: Tutti i campioni con livelli attesi al di sopra del range di calibrazione del dosaggio devono essere diluiti prima di essere dosati con un campione del paziente non trattato.

Avvertenze e precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare a 2–8°C. Eliminare secondo le normative di legge vigenti.

Seguire le precauzioni universali, e maneggiare tutti i componenti come se fossero capaci di trasmettere agenti infettivi. Sono stati analizzati i materiali di sorgente dal sangue umano e sono stati trovati non reattivi per sifilide; per anticorpi ad HIV 1 e 2; per l'antigeno superficiale dell'epatite B; e per anticorpi all'epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

Sottostrato chemiluminescente: Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce del sole diretta. (Vedere l'inserimento).

Acqua: Utilizzare solo 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 Teofillina (L2TN12)

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

L2KTN2: 1 confezione.

L2KTN6: 3 confezioni.

Porta Reagente Teofillina (L2TNA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con teofillina, in un tampone. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

L2KTN2: 1 porta reagente.

L2KTN6: 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.

Aggiustatori Teofillina (LTNL, LTNH)

Due flaconi (Basso ed Alto), 4 mL ciascuno, di teofillina in siero umano processato, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

L2KTN2: 1 set. **L2KTN6:** 2 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste (fornite col kit) sulle provette delle aliquote cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

I componenti dei kit sono forniti separatamente

L2SUBM: Substrato Chemiluminescente

L2PWSM: Tampone di lavaggio dell'Ago

L2KPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LRXT: Tubi di Reazione (monouso)

SDCM: Bi-level, multi-constituent control

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; Provette; controlli.

Procedura del Dosaggio

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

Vedere il manuale dell'operatore IMMULITE 2000 per: la preparazione, la messa a punto, la regolazione, la prova ed i procedimenti per il controllo della qualità.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Campioni per il Controllo di Qualità:

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (basso ed alto) di teofillina.

Range Terapeutico

Come indicato nella sezione Riassunto e Spiegazione, i livelli terapeutici sono generalmente tra 10 e 20 µg/mL,¹⁰ benché livelli tra 5 e 10 µg/mL possano essere ancora efficaci in alcuni soggetti.¹¹ Livelli tossici sono generalmente considerati al di sopra di 20 µg/mL.

Limitazioni

Per un utilizzo idoneo del prodotto è necessaria una piena comprensione di questa metodica.

La tabella della specificità deve essere consultata per la lista di sostanze che presentano una crossreattività misurabile nel dosaggio. Sostanze e/o cibi che non si ritrovano nella lista possono tuttavia crossreagire nel dosaggio.

Quanto segue deve essere tenuto in considerazione nell'interpretazione della concentrazione di teofillina:

- Tutte le medicine assunte in concomitanza dal paziente
- Il momento del prelievo in relazione alle assunzioni del farmaco nel tempo.
- Patologie esistenti.

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 da questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

Dati sulle prestazioni

Vedere le tabelle e le grafiche per i dati *rappresentativi* delle prestazioni della prova. I risultati sono espressi in µg/mL. (Se non è notato altrimenti, tutti i risultati sono stati generati nei campioni di siero raccolti in tubi senza barriere di gelatina o additivi che promuovono la coagulazione.)

Gamma di calibrazione: 1 – 60 µg/mL

Sensibilità analitica: 0,3 µg/mL

Precisione: I campioni sono stati elaborati in doppio da 20 giorni, due esecuzioni al giorno, per un totale di 40 esecuzioni e 80 ripetizioni. (Vedere la tabella "Precision".)

Linearità: I campioni sono stati provati sotto varie diluzioni. (Vedere la tabella "Linearity" per i dati rappresentativi.)

Recupero: Sono stati dosati campioni 1:19 cui sono state aggiunte tre soluzioni di Teofillina (125, 250 e 500 µg/mL). (Vedi tabella "Recovery" per dati rappresentativi).

Specificità: L'anticorpo è molto specifico per Teofillina. (Vedere la tabella "Specificity".)

Comparazione di Metodi: Il dosaggio è stato comparato al dosaggio DPC IMMULITE Teofillina su 155 campioni di pazienti (Range di concentrazione: circa da 1 a 60 µg/mL. Vedi grafico.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,98 (IML) + 0,73 µg/mL
r = 0,992

Valore medio:
27,0 µg/mL (IMMULITE 2000)
26,7 µg/mL (IMMULITE)

Tipi di Campione Alternativi: Per verificare l'effetto di Tipi di Campione Alternativi, è stato prelevato del sangue da 40 volontari in provette semplici, eparinizzata vacutainer EDTA e and Becton Dickinson SST®. Uguali volumi dei campioni mescolati sono stati diluiti con varie concentrazioni di teofillina, per ottenere valori lungo il range di calibrazione del dosaggio e quindi ridosati con il dosaggio IMMULITE 2000 Teofillina. Mediante regressione lineare:

(Eparina) = 0,86 (Siero) + 1,8 µg/mL
r = 0,970

(EDTA) = 0,90 (Siero) + 2,5 µg/mL
r = 0,964

(SST) = 1,09 (Siero) + 0,5 µg/mL
r = 0,990

Valore medio:
28,8 µg/mL (Siero)
26,5 µg/mL (Eparina)
28,4 µg/mL (EDTA)
31,8 µg/mL (SST)

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

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

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

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 Theophylline

Utilização: Para o doseamento quantitativo da teofilina em soro, no diagnóstico *in vitro*, em conjunto com o analisador IMMULITE 2000, como auxílio na monitorização da administração terapêutica deste broncodilatador.

Números de catálogo:
L2KTN2 (200 testes),
L2KTN6 (600 testes)

Test Code: **THE** Cor: **Verde claro**

Sumário e explicação do teste

A Teofilina é um derivado de metilxantina que é amplamente usado clinicamente pela sua ação broncodilatadora no tratamento de condições respiratórias como asma. Como broncodilatador, a teofilina parece exercer o seu efeito no músculo liso dos brônquios. A teofilina é um inibidor competitivo da enzima cíclica nucleotídica fosfodiesterase, uma enzima que cataliza a conversão de monofosfato de adenosina cíclica (cAMP) em 5'-monofosfato de adenosina (5'-AMP).¹ Outros mecanismos além da inibição de fosfodiesterase têm sido sugeridos para mediar o efeito broncodilatador da teofilina.² Outras metilxantinas que possuem uma reatividade cruzada mensurável — tais como cafeína, teobromina, e 8-cloroteofilina — estão presentes em café, chá, refrigerantes, chocolate, e certos medicamentos de venda livre como dimenidrinato.

A importância do doseamento das concentrações de teofilina está relacionada com o índice terapêutico relativamente limitado para teofilina assim como a variabilidade entre cada doente e de doente para doente na resposta à Teofilina. Existe uma "janela" de concentrações, abaixo da qual os níveis de teofilina são sub terapêuticos, e acima da qual existe uma incidência crescente

de efeitos colaterais tóxicos, tal como distúrbios gastrointestinais, taquicardia, arritmias cardíacas, convulsões e coma.^{3,4,5}

Doentes com os mesmos níveis de teofilina não experimentarão necessariamente os mesmos efeitos terapêuticos ou tóxicos. A variabilidade na disposição de teofilina resulta em amplas variações de concentrações de soro em doentes a receber a mesma dose.^{6,7} A teofilina é excretada primariamente através do metabolismo no fígado como 1-ácido metilúrico, 1,3-ácido dimetilúrico, e metilxantinas.⁸ Factores que afectam o metabolismo do fígado — como tabaco, idades extremas, terapia de drogas concomitantes, alcoolismo, e dieta — pode levar a concentrações sub terapêuticas ou tóxicas de teofilina num doente a receber uma dosagem que seria efectiva na ausência destas condições.

Outra fonte de variações resulta da formulação específica da dosagem empregue e a via de administração.⁹ Esta variação existe em parte devido à baixa solubilidade da teofilina e à ampla variação de formulações de dosagem de libertação gradativa que são usadas. Intravenosamente, a teofilina é administrada como aminofilina, que é um complexo de duas moléculas de teofilina com uma mole de etilenodiamina para aumentar a solubilidade.

Os níveis terapêuticos são geralmente estabelecidos entre 10 e 20 µg/mL,¹⁰ embora níveis entre 5 e 10 µg/mL ainda possam ser efectivos em certos indivíduos.¹¹ Níveis tóxicos são geralmente estabelecidos acima de 20 µg/mL.

Os níveis circulantes de teofilina geralmente alcançam um *plateau* ou nível estável com a administração de uma dose diária fixa. Um nível de teofilina em soro não deve ser considerado como reflexo da concentração do estado estável a não ser que uma dosagem fixa contínua tenha sido administrada por pelo menos de 3 a 5 semi-vidas para teofilina.¹⁵ Embora a média *in vivo* da semi-vida para teofilina em adultos seja de 4,5 horas, varia enormemente nesta população (3 a 9,5 horas) e é significativamente mais curta em crianças (média de 3,6 horas, variando de 1,5 a 9,5 horas).¹⁰ As

seguintes condições e doenças foram implicadas na alteração da farmacocinética da teofilina: insuficiência cardíaca congestiva, infecção viral respiratória, doença do fígado, e insuficiência renal.¹⁶ O uso concomitante ou paragem das seguintes drogas pode também afectar as farmacocinéticas da teofilina: cimetidina, barbitúricos, eirtromicina, troleandromicina, fenitoína e alpurinol.^{16,17} Consulte a informação contida na embalagem do fabricante para os produtos com teofilina e o produto de droga potencialmente interferente para informações adicionais.

Princípio do Procedimento

IMMULITE 2000 Theophylline é um imunoensaio enzimático competitivo de fase sólida por quimioluminescência.

Ciclos de incubação: 1 × 30 minutos.

Colheita

A hora da colheita é importante. A fim de obter amostras de teofilina que reflectam com precisão os níveis farmacológicos no doente, devem ser seguidas directrizes no que diz respeito às horas de colheita e interpretação dos resultados. As amostras não devem ser colhidas imediatamente após a dosagem, durante a absorção e distribuição da droga. No caso de formulação oral, as amostras devem ser colhidas 4 horas após a dose para permitir a completa absorção e distribuição.¹² No caso de administração intravenosa ou administração oral com uma formulação líquida, as amostras podem ser colhidas 1 hora após a dosagem.¹³ Em recém-nascidos prematuros que receberam administração rectal de aminofilina, amostras podem ser colhidas 2 horas após a dosagem.¹⁴ Devem ser feitas colheitas de amostras seriadas compatíveis com a dosagem apropriada para cada situação clínica.

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 Teofilina 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 soro.

Estabilidade: 7 dias a 2–8°C, ou 2 meses a –20°C.

Tubos SST: Estudos do fabricante tem mostrado que os tubos de vacuo Becton Dickinson SST® podem causar subida nos valores dos ensaios para drogas terapêuticas.

Diluição de Amostras Elevadas: Todas as amostras para que se esperam valores acima da gama de calibração do ensaio devem ser diluídas antes do ensaio com uma amostra de doente não tratada.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Eliminar 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 antigénio de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em

canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

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

Água: Utilize água destilada ou desionizada.

Materiais Fornecidos

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

Embalagem de pérolas de Teofilina (L2TN12)

Com código de barras. 200 pérolas, revestidas com anticorpo policlonal de coelho anti-teofilina. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KTN2: 1 embalagem.

L2KTN6: 3 embalagens.

Embalagem de Reagente de Teofilina (L2TNA2)

Com código de barras. 11,5 mL de fosfatase alcalina (intestino de bezerro) conjugada com teofilina em tampão. Estável até a data de validade a 2–8°C.

L2KTN2: 1 embalagem.

L2KTN6: 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 Teofilina (LTNL, LTNH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) cada com 4 mL de teofilina em soro humano processado, com conservante. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

L2KTN2: 1 conjunto.

L2KTN6: 2 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas da alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") nos tubos de amostra de forma a que os códigos de

barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

Componentes do kit fornecidos separadamente

L2SUBM: Substrato quiomiluminescente

L2PWSM: Solução de lavagem

L2KPM: Kit de limpeza do pipetador

LRXT: Tubos de reacção (descartáveis)

SDCM: Controlo multi-paramétrico com dois níveis.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; 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.

Quality Control Samples: Use controlos ou misturas de amostras com pelo menos dois níveis de teofilina (baixo e alto).

Valor Terapêutico

Como indicado na secção de Sumário e Explicação do Teste, os níveis terapêuticos são geralmente estabelecidos entre 10 e 20 µg/mL,¹⁰ embora níveis entre 5 e 10 µg/mL ainda possam ser efectivos em certos indivíduos.¹¹ Níveis tóxicos são geralmente estabelecidos acima de 20 µg/mL.

Limitações

A total compreensão da informação contida nesta bula é necessária para o uso adequado deste produto.

A tabela de especificidade deve ser consultada para a lista de substâncias que apresentam reactividade cruzada mensurável neste doseamento. Outros medicamentos e/ou alimentos não encontrados nesta lista podem mesmo

assim apresentar reactividade cruzada no doseamento.

Para a interpretação das concentrações de teofilina deve ter-se em consideração o seguinte:

- Todas as medicações tomadas pelo doente.
- Tempo de colheita em relação à história de dosagem.
- Doenças existentes.

Os anticorpos heterófilicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscatto 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 interacções 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 µg/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.)

Calibração: 1 – 60 µg/mL

Sensibilidade Analítica: 0,3 µg/mL

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: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções (125, 250 e 500 µg/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

Especificidade: O doseamento é específico para teofilina. (Ver tabela de "Specificity".)

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado ao IMMULITE Theophylline da DPC em 155 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 60 µg/mL. Consulte o gráfico.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,98 (IML) + 0,73 µg/mL
r = 0,992

Médias:
27,0 µg/mL (IMMULITE 2000)
26,7 µg/mL (IMMULITE)

Tipo de amostra alternativa: Para determinar se outro tipo de amostras além de soro podem ser usadas, foram colhidas amostras de sangue de 40 voluntários em tubos secos, com EDTA, heparinizados e de vácuo Becton Dickinson SST®. As amostras foram adicionadas com várias concentrações de teofilina para se obterem resultados ao longo da gama de calibração do ensaio. Todas as amostras foram analisadas com o IMMULITE 2000 Theophylline. Regressão linear:

(Heparina) = 0,86 (Soro) + 1,8 µg/mL
r = 0,970

(EDTA) = 0,90 (Soro) + 2,5 µg/mL
r = 0,964

(SST) = 1,09 (Soro) + 0,5 µg/mL
r = 0,990

Médias:
28,8 µg/mL (Soro)
26,5 µg/mL (Heparina)
28,4 µg/mL (EDTA)
31,8 µg/mL (SST)

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 em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Lipémia: A presença de trigliceridos em concentrações até 3 000 mg/dL não afecta o resultado, dentro da precisão do ensaio.

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 LTD

Glyn Rhonwy
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL
United Kingdom

DPC®

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

2005-06-29

PIL2KTN – 6



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