

IMMULITE®

Theophylline

For use on the IMMULITE®
and IMMULITE® 1000 systems

DPC®

IMMULITE®/IMMULITE® 1000 Theophylline

English

Intended Use: For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of theophylline in serum, as an aid in monitoring the therapeutic administration of this bronchodilator.

Catalog Number: **LKTN1** (100 tests), **LKTN5** (500 tests)

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

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/IMMULITE 1000 Theophylline is a solid-phase, competitive chemiluminescent enzyme 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/IMMULITE 1000 Theophylline has not been tested with all possible variations of tube types.

Volume Required: 50 µL serum. (Sample cup must contain at least 100 µL more than the total volume required.)

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

SST Tubes: Manufacturers' 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 Theophylline Sample Diluent.

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.

Chloramphenicol, at concentrations less than 0.1 g/dL has been added as a preservative. Chloramphenicol is known to cause cancer; this disclosure is required by the state of California.

Chemiluminescent Substrate: Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

Water: Use distilled or deionized water.

Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

Theophylline Test Units (LTN1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with polyclonal rabbit anti-theophylline antibody. Stable at 2–8°C until

expiration date.

LKTN1: 100 units. **LKTN5:** 500 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

Theophylline Reagent Wedge (LTN2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to theophylline in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

LKTN1: 1 wedge. **LKTN5:** 5 wedges.

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.

LKTN1: 1 set. **LKTN5:** 2 sets.

Kit Components Supplied Separately

Theophylline Sample Diluent (LTNZ)

For the manual dilution of patient samples. One vial containing 25 mL processed, theophylline-free human serum. Stable at 2–8°C for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

LSUBX: Chemiluminescent Substrate

LPWS2: Probe Wash Module

LKPM: Probe Cleaning Kit

LCHx-y: Sample Cup Holders (barcoded)

LSCP: Sample Cups (disposable)

LSCC: Sample Cup Caps (optional)

SDCM: A bi-level, human serum-based control containing theophylline.

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

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 of the Test 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.

- 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

Intraassay Precision (Within-Run):

Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

Interassay Precision (Run-to-Run):

Statistics were calculated for samples assayed in 20 different runs. (See "Interassay 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 (108, 230 and 428 µg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

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

Bilirubin: Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

Hemolysis: Presence of packed red blood cells in concentrations up to 30 µL/mL has no effect on results, within the precision of the assay.

Method Comparison: The assay was compared to DPC's Coat-A-Count Theophylline assay on 59 patient samples. (Concentration range: approximately 1 to 34 µg/mL. See graph.)
By linear regression:

$$(IML) = 1.07 (CAC) - 1.32 \mu\text{g/mL} \\ r = 0.97$$

Means:

11.3 µg/mL (IMMULITE)
11.8 µg/mL (Coat-A-Count)

References

- 1) 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 Pharmacokinet* 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.
- 18) National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard*. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998.

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

Intraassay Precision (µg/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	4.5	0.31	6.9%
2	16	0.85	5.3%
3	34	2.7	7.9%

Interassay Precision (µg/mL)

	Mean ¹	SD ²	CV ³
1	4.8	0.50	10.4%
2	16	0.91	5.7%
3	34	2.6	7.6%

Linearity (µg/mL)

	Dilution ¹	Observed ²	Expected ³	% O/E ⁴
1	5 in 5 ⁵	16.8	—	—
	4 in 5	14.4	13.4	107%
	3 in 5	10.7	10.1	106%
	2 in 5	6.9	6.7	103%
	1 in 5	3.9	3.4	115%
2	5 in 5	19.6	—	—
	4 in 5	14.3	15.7	91%
	3 in 5	10.8	11.8	92%
	2 in 5	7.6	7.8	97%
	1 in 5	4.5	3.9	115%
3	5 in 5	26.2	—	—
	4 in 5	20.6	20.9	99%
	3 in 5	16.2	15.7	103%
	2 in 5	11.1	10.5	106%
	1 in 5	5.9	5.2	113%

Specificity

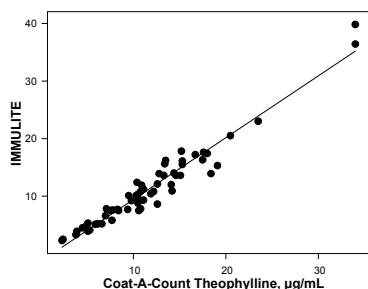
Compound ¹	Amount Added ²	Percent Cross-reactivity ³
Theophylline	—	100%
Aminophylline	—	100%
Caffeine	1,000 µg/mL	0.3%
Acetamidophenol	1,000 ng/mL	ND
Diphylline	1,000 ng/mL	ND
3,7-Dimethyluric acid	1,000 ng/mL	ND
1-Methylxanthine	1,000 ng/mL	ND
1-Methyluric acid	1,000 ng/mL	ND
3-Methyluric acid	1,000 ng/mL	ND
9-Methyluric acid	1,000 ng/mL	ND
1,3,7-Trimethyluric acid	1,000 ng/mL	ND
Phenobarbital	1,000 ng/mL	ND
Theobromine	1,000 ng/mL	ND

ND: not detectable.⁴

Recovery (µg/mL)

	Spiking Solution ¹	Observed ²	Expected ³	%O/E ⁴
1	—	2.3	—	—
	A	7.5	7.6	99%
	B	11.3	13.7	82%
	C	21.4	23.6	91%
2	—	13.4	—	—
	A	15.9	18.1	88%
	B	24.5	24.2	101%
	C	33.1	34.1	97%
3	—	15.4	—	—
	A	19.1	20.0	96%
	B	26.6	26.1	102%
	C	39.6	36.0	110%
4	—	16.9	—	—
	A	24.1	21.5	112%
	B	28.6	27.6	104%
	C	33.6	37.5	90%
5	—	17.5	—	—
	A	25.8	22.0	117%
	B	30.2	28.1	107%
	C	42.2	38.0	111%

Method Comparison



(IML) = 1.07 (CAC) – 1.32 µg/mL
r = 0.97

Deutsch. Intraassay Precision: ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** ¹Mittelwert, ²S (Standardabweichung), ³CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** ¹Verdünnung, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E, ⁵ in 5. **Recovery:** ¹Probe, ²Beobachtet (B), ³Erwartet (E), ⁴% B/E. **Specificity:** ¹Verbindung, ²zugewetzte Menge, ³% Kreuzreaktivität, ⁴ND: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** Theophylline: Theophyllin.

Español. Intraassay Precision: ¹Media, ²DS, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Media, ²DS, ³CV. **Linearity:** ¹Dilución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵ in 5. **Recovery:** ¹Solución, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Compuesto, ²Cantidad añadida, ³% Reacción cruzada, ⁴ND: no detectable. **Method Comparison:** Theophylline: Teofilina.

Français. Intraassay Precision: ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Interassay Precision:** ¹Moyenne, ²SD, ³CV. **Linearity:** ¹Dilution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A, ⁵ in 5. **Recovery:** ¹Solution, ²Observé (O), ³Attendu (A), ⁴%O/A. **Specificity:** ¹Composé, ²ajouté, ³Réaction croisée %. ⁴ND: non détectable. **Method Comparison:** Theophylline: Theophylline.

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

Português. Intraassay Precision: ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** ¹Média, ²Desvio padrão, ³Coefficiente de variação. **Linearity:** ¹Diluição, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E, ⁵ in 5.

Recovery: ¹Solução, ²Observado (O), ³Esperado (E), ⁴%O/E. **Specificity:** ¹Composto, ²Quantidade adicionada, ³Percentagem de reacção cruzada, ⁴ND: não detectável. **Method Comparison:** Theophylline: Teofilina.

Deutsch

Theophyllin

Anwendung: Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme — zur quantitativen Messung von Theophyllin im Serum, als Hilfsmittel in der Therapieüberwachung dieses Bronchodilatators.

Artikelnummern:

LKTN1 (100 Tests)

LKTN5 (500 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. 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 Halbwertzeiten kann die „Steady-State“ Theophyllin Konzentration sicher ermittelt werden.¹⁵ Die mittlere in-vivo Halbwertzeit für Theophyllin beträgt beim Erwachsenen 4,5 Stunden bei einer breiten Variation von 3 bis 9,5 Stunden. Bei Kindern liegt die Halbwertzeit 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, Troleandomycin, Phenytoin und Allopurinol.^{16,17} Nähere Hinweise sind den Gebrauchsinformationen der Theophyllin Arzneimittel oder der evtl. störenden Arzneimittel zu entnehmen.

Methodik

Der Theophyllin – IMMULITE/IMMULITE 1000-Test ist ein kompetitiver Festphasen-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 Adsorption 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 zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung

kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter 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/IMMULITE 1000 Theophyllin sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden.

Erforderliche Menge: 50 µl Serum. (Inhalt der Probenschale muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.)

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.

Verdünnen bei hohen Konzentrationen: Alle Proben, bei denen mit über dem Messbereich des Assay liegenden Konzentrationen zu rechnen ist, sollten vor dem Test verdünnt werden mit Theophyllin –Verdünnungspuffer.

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.

Chloramphenicol wurde mit einer Konzentration von weniger als (<0,1 g/dl) als Konservierungsmittel zugesetzt. Chloramphenicol gilt als cancerogen; dieser Hinweis wird durch Vorgaben des Staates Kalifornien erforderlich.

Chemilumineszenz-Substrat: Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

Wasser: Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

Im Lieferumfang enthalten

Die Komponenten sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Etiketten werden für den Assay benötigt.

Theophyllin-Testeinheiten (LTN1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine Polystyrol-Kugel, beschichtet mit Theophyllin-Antikörpern (polyklonal, Kaninchen). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

LKTN1: 100 Testeinheiten.

LKTN5: 500 Testeinheiten.

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Raumtemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

Theophyllin-Reagenzbehälter (LTN2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm) konjugiertes Theophyllin im Puffer, mit Konservierungsmittel. Verschlossen und gekühlt aufbewahren: Gekühlt (2–8°C) haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Aufbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

LKTN1: 1 Behälter.

LKTN5: 5 Behälter.

Theophyllin-Kalibratoren (LTNL, LTNH)
Zwei Fläschchen (Low und High), jeweils mit 4 ml Theophyllin in prozessiertem humanem Serum, mit Konservierungsmittel. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate bei –20°C haltbar.
LKTN1: 1 Set.
LKTN5: 2 Sets.

Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

Theophyllin–Probenverdünner (LTNZ)
Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) mit prozessiertem Theophyllin-freiem humanem Serum. 30 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C haltbar oder 6 Monate bei –20°C (aliquotiert).

LSUBX: Chemilumineszenz-Substrat
LPWS2: Pipettenwaschlösung
LKPM: Pipettenreinigungsset
LCHx-y: Halterungen für die Probenschalen (mit Barcodierung)
LSCP: Probenschalen (Einwegartikel)
LSCC: Verschlüsse für die Probenschalen (optional)

SDCM: Arzneimittel-Kontrollmodul in drei Konzentrationen.

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

Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

Empfohlenes Kalibrationsintervall:
2 Wochen.

Proben zur Qualitätskontrolle:
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.

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

Heterophile Antikörper in Humanseren 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 im einzelnen Testansatz (intraassay): Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay Precision“).

Präzision zwischen Testansätzen (interassay): Statistik aus 20 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay Precision“).

Linearität: Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Linearity“.)

Wiederfindung: Die getesteten Proben waren mit drei Theophyllin -Lösungen 1:19 versetzt (108, 230 und 428 µg/ml). (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle „Recovery“.)

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

Bilirubin: Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Hämolyse: Erythrozytenkonzentrate haben in Konzentrationen bis zu 30 µl/ml keinen Einfluss auf die Messung, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

Methodenvergleich: Der Assay wurde unter Verwendung von 59 Patientenproben mit DPC's Coat-A-Count Theophyllin verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 1–34 µg/ml. Siehe Grafik.) Durch lineare Regression:

(IML) = 1,07 (CAC) – 1,32 µg/ml
r = 0,97

Mittelwerte:
11,3 µg/ml (IMMULITE)
11,8 µg/ml (Coat-A-Count)

Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

Español

Teofilina

Utilidad del análisis: Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 100 — para la medición cuantitativa de teofilina en suero. Como ayuda en la monitorización de la administración terapéutica de este broncodilatador.

Referencia: **LKTN1** (100 tests),
LKTN5 (500 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 etileno-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 estado 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 IMMULITE/IMMULITE 1000 Teofilina es un inmunoensayo enzimático quimioluminiscente competitivo 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/IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos.

Volumen requerido: 50 µl de suero. (El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido).

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

Tubos SST: Los estudios de los fabricantes han demostrado que los tubos vacutainer Becton Dickinson SST® pueden provocar un aumento en los valores de los ensayos para drogas terapéuticas.

Dilución de muestras con niveles elevados: Todas las muestras que se prevea vayan a tener niveles que estén por encima del intervalo de calibración del ensayo deberán diluirse antes del ensayo con diluyente para muestras de Teofilina.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

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

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de

superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

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 canerías de cobre y plomo.

Se ha añadido cloranfenicol, a concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Se sabe que el cloranfenicol produce cáncer (esta información es necesaria comunicarla al estado de California).

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

Agua: Use agua destilada o desionizada.

Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

Unidades de análisis de Teofilina (LTN1)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpo policlonal de conejo anti-teofilina. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

LKTN1: 100 unidades.

LKTN5: 500 unidades.

Espera a que las bolsas de las unidades de reacción alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

Vial de reactivo de Teofilina (LTN2)

Con código de barras. 7,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con teofilina en solución tampón, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

LKTN1: 1 vial. **LKTN5:** 5 viales

Ajustadores de Teofilina (LTNL, LTNH)
Dos viales (bajo y alto), cada uno con 4 ml, de teofilina en suero humano tratado, con conservante. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse o estable a –20°C durante 6 meses.
LKTN1: 1 juego.
LKTN5: 2 juegos.

Componentes del kit que se suministran por separado

Diluyente para muestras de Teofilina (LTNZ)

Para la dilución manual de las muestras de los pacientes. Un vial conteniendo 25 ml de una matriz de suero humano procesado, libre de Teofilina. Estable a 2–8°C durante 30 días después de abrirse, o hasta 6 meses (aliquotados) a –20°C.

LSUBX: Sustrato quimioluminiscente

LPWS2: Lavado de sonda

LKPM: Kit de limpieza de sonda

LCHx-y: Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

LSCP: Recipientes de muestras (desechables)

LSCC: Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

SDCM: Módulo Control de Drogas del Suero

También necesarios

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada; controles.

Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visualmente cada unidad de recepción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

Intervalo de ajuste recomendado:
2 semanas.

Muestras de Control de calidad: Use controles o pools de muestras con dos

niveles diferentes, como mínimo, de teofilina (bajo y alto).

Valores esperados

Los niveles terapéuticos se considera que están generalmente entre 10 y 20 µg/ml,¹⁰ aunque niveles entre 5 y 10 µg/ml pueden todavía ser efectivos en ciertos individuos.¹¹ Los niveles tóxicos se consideran, generalmente, a partir de 20 µg/ml.

Limitaciones

Para usar correctamente este producto es necesaria una completa comprensión de la información contenida en este paquete. Debe consultarse la tabla de especificidad para ver una lista de sustancias que exhiben reacción cruzada mensurable para este ensayo. No obstante, es posible que otras medicaciones o alimentos que no se encuentran en esta lista tengan reacción cruzada en el ensayo.

- Todas las medicaciones concurrentes que tome el paciente
- El momento de recogida de la muestra en relación con el historial de dosificación
- Enfermedades u otras 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: 0,3 µg/ml

Precisión intraensayo (dentro de una tanda): Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Véase la tabla "Intraassay Precision").

Precisión entre ensayos (de una tanda a otra): Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 20 tomas distintas. (Véase la tabla de "Interassay Precision").

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

Recuperación: Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones de teofilina (108, 230 y 428 µg/ml). (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos.)

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

Bilirrubina: La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tienen ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

Hemolisis: La presencia de eritrocitos hasta concentraciones de 30 µl/ml no tiene efecto en los resultados, en lo concerniente a la precisión del ensayo.

Comparación de los métodos: El ensayo se ha comparado con el ensayo con Coat-A-Count de Teofilina de DPC en 59 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente 1 a 34 µg/ml. Véase el gráfico "Comparación de métodos"). Por regresión lineal:

(IMMULITE) = 1,07 (CAC) – 1,32 µg/ml
r = 0,97

Medias:
11,3 µg/ml (IMMULITE)
11,8 µg/ml (Coat-A-Count)

Asistencia técnica

Contáctese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

Français

IMMULITE Theophylline

Domaine d'utilisation : dosage quantitatif de la Théophylline dans le sérum. Ce test est réservé à un usage diagnostic *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE et de IMMULITE 1000 et constitue une aide au suivi du traitement par ce bronchodilatateur.

Référence catalogue : **LKTN1** (100 tests), **LKTN5** (500 tests)

Code produit : **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 disponibilité 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 disponibilité 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 cimetidine, les barbituriques, l'érythromycine, la Trileandromycine, la phénytoïne et l'allopurinol.^{16,17} 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/IMMULITE 1000 Théophylline est une immunoenzymologie chimioluminescente compétitive à 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/IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles.

Volume nécessaire : 50 µl de sérum.
(La cupule à réaction doit pouvoir contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.)

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

Tubes SST : les études des fabricants ont démontré que les tubes vacutainers Becton Dickinson SST[®] peuvent engendrer une élévation des valeurs pour les dosages de médicaments.

Dilution des échantillons fortement concentrés : tous les échantillons pour lesquels on s'attend à des valeurs situées au delà de l'intervalle de linéarité du dosage devront être dilués avant de procéder au dosage avec le Diluant échantillon Théophylline.

Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Réactifs : conserver les réactifs à +2°/+8 °C. Eliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

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.

Du chloramphénicol, à des concentrations ne dépassant pas 0,1 g/dl, a été ajouté comme conservateur. Le chloramphénicol pouvant être cause de cancer, cette notification est demandée par l'Etat de Californie.

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

Eau : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

Tests unitaires Théophylline (LTN1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'une bille de polystyrène revêtue d'un anticorps polyclonal de lapin dirigé contre la Théophylline. Stable à +2°/+8 °C jusqu'à la date de péremption.

LKTN1: 100 unités

LKTN5: 500 unités

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

Cartouche à réactif Théophylline (LTN2)

Avec code-barre. 7,5 ml de solution tamponnée de phosphatase alcaline d'intestins de veau conjuguée à théophylline dans un tampon avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2°/ +8 °C jusqu'à la date de péremption. A utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de stockage sont respectées.

LKTN1: 1 cartouche.

LKTN5: 5 cartouches.

Ajusteurs Théophylline (LTNL, LTNH)

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

LKTN1: 1 jeu. **LKTN5**: 2 jeux.

Composants du coffret fournis séparément

Diluant échantillon Théophylline (LTNZ)

Pour la dilution manuelle des échantillons cliniques. Un flacon (25 ml) de sérum humain prétraité ne contenant pas de Théophylline. Stable à +2°/ +8 °C pendant 30 jours après ouverture, ou 6 mois (aliquoté) à -20 °C.

LSUBX : Substrat chimiluminescent

LPWS2 : Solution de lavage

LKPM : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

LCHx-y : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)

LSCP : Godets échantillons (à usage unique)

LSCC : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

SDCM : témoin multi-constituants à deux niveaux de concentration

Egalement requis

Pipettes de transfert à échantillon ; eau distillée ou désionisée ; témoins.

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 de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

Intervalle d'ajustement recommandé : 2 semaines.

Echantillons pour le contrôle de qualité : utiliser des Contrôles ou des pools de Echantillons avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de théophylline.

Concentrations thérapeutiques

Comme il l'est indiqué dans les paragraphes introduction et principe du test, la zone thérapeutique généralement admise pour la Théophylline est comprise entre 10 et 20 µg/ml,¹⁰ bien que des valeurs comprises entre 5 et 10 µg/ml puissent être efficaces chez certains patients.¹¹ Les effets toxiques se voient généralement pour des taux supérieurs 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 composants du coffret et interférer avec

les immunodosages *in vitro*. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums rares et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances de ce test. Les résultats sont donnés en 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).

Intervalle de linéarité : 1–60 µg/ml

Sensibilité analytique : 0,3 µg/ml

Précision intra-dosage (au sein d'une même série) : les statistiques ont été réalisées sur les résultats de 20 réplicata d'échantillons dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

Précision inter-dosage (entre plusieurs séries) : les statistiques ont été réalisées sur des échantillons dosés dans 20 séries différentes (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

Test de dilution : des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

Test de récupération : des échantillons dosés ont été chargés dans une proportion de 1 à 19 avec trois solutions Théophylline (108, 230 et 428 µg/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

Spécificité : l'anticorps utilisé est hautement spécifique de Théophylline. (Voir le tableau « Specificity ».)

Bilirubine : La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

Hémolyse : La présence d'agrégat d'hématies jusqu'à une concentration de 30 µl/ml, n'a aucun effet sur les résultats quant à la précision du dosage.

Comparaison de méthodes : le test a été comparé à Coat-A-Count Théophylline de DPC sur 59 échantillons (intervalle de concentrations : 1 à 34 µg/ml environ. Voir graphique). Par régression linéaire :

(IML) = 1,07 (CAC) – 1,32 µg/ml

r = 0,97

Moyennes :

11,3 µg/ml (IML)

11,8 µg/ml (Coat-A-Count)

Assistance technique

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

Teofillina

Uso: Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa della teofillina nel siero, quale ausilio nel monitoraggio della somministrazione terapeutica di questo broncodilatatore.

Codice: **LKTN1** (100 test),

LKTN5 (500 test)

Codice del Test: **THE**

Colore: **verde chiaro**

Riassunto e Spiegazione del Test

La teofillina è un derivativo della metilxantina che viene largamente utilizzata per la sua attività di broncodilatatore nel trattamento di condizioni respiratorie quali l'asma. Come broncodilatatore, la teofillina sembra esercitare il suo effetto sul muscolo liscio dei bronchi. La teofillina è un'inibitore competitivo dell'enzima nucleotide ciclico

fosfodiesterasi, un enzima che catalizza la conversione del monofosfato ciclico di adenosina (cAMP) in monofosfato 5'-adenosina (5'-AMP).¹ Sono stati suggeriti meccanismi diversi dall'inibizione del fosfodiesterase per mediare l'effetto broncodilatatore della teofillina.² Altre metilxantine che hanno una crossreattività rilevabile — come la caffeina, la teobromina e l'8-cloroteofillina — si ritrovano nel caffè, nel tè, nelle bevande, nel cioccolato, ed in alcune medicine in vendita senza ricetta medica, come il dimenidrinato.

L'importanza della misurazione delle concentrazioni di teofillina è collegata all'indice terapeutico relativamente ristretto per la teofillina ed anche alla variabilità inter- ed intra-paziente nell'eliminazione della teofillina. Esiste una finestra di concentrazioni inferiore alla quali i livelli di teofillina sono subterapeutici, e superiori alla quale c'è un'incidenza elevata di effetti collaterali tossici, come disturbi gastrointestinali, tachicardia, aritmie cardiache, convulsioni e coma.^{3,4,5}

Non è sicuro che pazienti con gli stessi livelli di teofillina abbiano gli stessi effetti terapeutici o tossici. La variabilità nell'eliminazione della teofillina causa concentrazioni di siero molto variabili in pazienti che ricevono la stessa dose.^{6,7} La teofillina viene eliminata principalmente attraverso il metabolismo nel fegato come acido 1-metilurico, acido 1,3-dimetilurico e metilsantina.⁸ I fattori che influenzano il metabolismo del fegato — come per esempio il fumo, età, terapia farmaceutica concomitante, alcoolismo e dieta — possono portare a concentrazioni subterapeutiche o tossiche in pazienti che ricevono una dose che sarebbe efficace in assenza di queste condizioni.

Un'altra fonte delle variazioni dei risultati è la specifica formulazione della dose impiegata e la via di somministrazione.⁹ Questa variazione esiste in parte a causa della bassa solubilità della teofillina cosiccome ad un range esteso di formulazioni di dosi a rilascio sostenuto che vengono utilizzate. Per via endovenosa, la teofillina viene somministrata come aminofillina, un complesso di due molecole di teofillina con una mole di etilenediamina per migliorare la solubilità.

I livelli terapeutici sono generalmente tra 10 e 20 µg/mL,¹⁰ benchè i livelli tra 5 e 10 µg/mL possano essere efficaci in alcuni individui.¹¹ I livelli tossici sono generalmente considerati superiori a 20 µg/mL.

I livelli circolanti di teofillina generalmente raggiungono uno stato stabile con la somministrazione di una dose giornaliera fissa. Non è consigliabile presporre che il livello di teofillina nel siero rispecchi la concentrazione stabile a meno che una dose continua fissa sia stata somministrata per 3– 5 emivite per la teofillina.¹⁵ Benchè l'emivita media *in vivo* in adulti sia 4,5 ore, l'emivita varia molto in questa popolazione (da 3 a 9,5 ore) ed è significativamente più breve nei bambini (media: 3,6 ore, range: 1,5 – 9,5 ore).¹⁰ Le seguenti malattie e condizioni sono implicate nell'alterazione della farmacocinetica della teofillina: collasso cardiaco congenito, infezioni respiratorie virali, malattie epatiche, e renali.¹⁶ L'uso concomitante o discontinuo dei seguenti farmaci può influenzare la farmacocinetica della teofillina: cimetidina, barbiturici, eritromicina, troleandromicina, fenitoina ed allopurinolo.^{16,17} Consultare la metodica nella confezione per dettagli sulla teofillina e sull'interferenza con altri farmaci.

Principio del Dosaggio

IMMULITE/IMMULITE 1000 Teofillina è un enzima di fase solida, chimico luminescente, immuno-analisi.

Cicli d'incubazione: 1 × 30 minuti.

Prelievo dei Campioni

E' importante annotare l'ora del prelievo del campione. Per ottenere campioni di teofillina che rispecchino accuratamente i livelli farmacologici nel paziente, è consigliabile seguire le linee guida rispetto all'ora del prelievo ed all'interpretazione dei risultati. I campioni non devono essere prelevati immediatamente dopo la somministrazione del farmaco, durante l'assorbimento e la distribuzione del farmaco. In seguito alla somministrazione di una dose orale in forma solida, i campioni devono essere prelevati 4 ore dopo la dose per consentire l'assorbimento e la distribuzione completa.¹² In seguito alla somministrazione endovenosa o alla

somministrazione in forma liquida, i campioni devono essere prelevati 1 ora dopo la somministrazione della dose.¹³ Nei neonati prematuri che ricevono una somministrazione rettale di aminofillina, i campioni devono essere prelevati due ore dopo la somministrazione della dose.¹⁴ E' consigliabile seguire un orario costante per il prelievo dei campioni rispetto all'ora di somministrazione.

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/IMMULITE 1000 Teofillina non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette.

Volume richiesto: 50 µL di siero. (Il porta campioni deve contenere almeno 100 µL più del volume totale richiesto).

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 vacutainer SST[®] possono provocare un innalzamento dei valori nei dosaggi terapeutici.

La diluizione di campioni con livelli superiori: Tutti i campioni che avranno livelli superiori alla gamma di calibrazione della prova devono essere diluiti prima della prova con Diluente Teofillina per campioni.

Avvertenze e Precauzioni

Per uso diagnostico *in vitro*.

Reagenti: Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

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.

A concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL, è stato aggiunto Cloranfenicolo come conservante. Il Cloranfenicolo è un noto cancerogeno; tale informazione è prescritta dallo stato della California.

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

Acqua: Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

Materiali Forniti

I componenti sono un gruppo accoppiato. Le etichette del codice a barra sono necessarie per la prova.

Test Unit Teofillina (LTN1)

Ogni test unit con codice a barra contiene una biglie coattat con un anticorpo policlonale di coniglio anti-teofillina. Stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza.

LKTN1: 100 unit. **LKTN5:** 500 unit.

Le buste delle test unit devono essere a temperatura ambientale prima di aprire. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatto la chiusura ermetica. Risigillare le buste per proteggere contro umidità.

Porta Reagente Teofillina (LTN2)

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con teofillina in un tampone, con conservanti. Conservare chiuso nel: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di

utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

LKTN1: 1 porta reagente.

LKTN5: 5 porta reagenti.

Calibratori Teofillina (LTNL, LTNH)

Due flaconi (basso ed alto), ciascuno con 4 mL di la 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.

LKTN1: 1 set. **LKTN5:** 2 set.

Componenti del Kit Forniti Separatamente

Diluente del Campione Teofillina (LTNZ)

Per la diluizione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone contenente 25 mL di siero umano processato privo di teofillina. Stabile a 2–8°C per 30 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

LSUBX: Substrato Chemiluminescente

LPWS2: Tampone di lavaggio dell'Ago

LKPM: Kit di Pulizia dell'Ago

LCHx-y: Tubi porta campioni (con codice a barre)

LSCP: Porta Campioni (monouso)

LSCC: Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

SDCM: Un controllo a due livelli basato su siero umano contenente teofillina.

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

Procedura del Dosaggio

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, setup, diluizione, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

Intervallo di Calibrazione Consigliato: 2 settimane.

Controllo di Qualità: Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di teofillina.

Gamma terapeutica

Come indicato nella sezione Riassunto e Spiegazione del dosaggio, i livelli terapeutici sono generalmente considerati tra 10 e 20 µg/mL,¹⁰ benchè i livelli tra 5 e 10 µg/mL possano essere efficaci in certi individui.¹¹ I livelli tossici sono generalmente considerati superiori a 20 µg/mL.

Limiti

E' necessaria una comprensione completa delle informazioni contenute nella metodica della confezione per un utilizzo appropriato di questo prodotto.

E' consigliabile consultare la tabella relativa alla specificità per un elenco di sostanze che hanno una crossreattività rilevabile in questo dosaggio. Altre medicinie e/o alimenti che non appaiono in questo elenco possono crossreagire in questo dosaggio.

- Tutte le altre medicine assunte dal paziente in concomitanza
- Il momento del prelievo in relazione alla somministrazione delle dosi.
- Altre condizioni patologiche 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.

Prestazioni del Dosaggio

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.)

Range di calibrazione: 1 – 60 µg/mL

Sensibilità analitica: 0,3 µg/mL

Precisione intra-dosaggio (All'interno della stessa seduta): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 replicati in un'unica seduta (Vedi la Tabella "Intraassay Precision").

Precisione inter-dosaggio (Da una seduta all'altra): Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 sedute diverse. (Vedi la Tabella "Interassay Precision").

Linearità: Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

Ricupero: Sono stati analizzati i campioni etichettati da 1 a 19 con tre soluzioni di teofilina (108, 230 e 428 µg/ml). (Vedere la tabella "Recovery" per i dati rappresentativi).

Specificità: Il dosaggio è estremamente specifico per la teofilina (Vedi la Tabella "Specificity").

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

Emolisi: La presenza di globuli rossi impaccati in concentrazioni fino a 30 µL/mL non ha effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

Confronto di metodi: Il dosaggio è stato comparato al Coat-A-Count Theophylline della DPC in 59 campioni di pazienti. (Range di concentrazione: da 1 fino a 34 µg/mL. Vedi grafico.) Con regressione lineare:

(IML) = 1,07 (CAC) – 1,32 µg/mL
r = 0,97

Valore medio:
11,3 µg/mL (IMMULITE)
11,8 µg/mL (Coat-A-Count)

Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

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

Português

Teofilina

Utilização: Para o doseamento quantitativo da teofilina em soro, no diagnóstico *in vitro* em conjunto com o Analisador IMMULITE e IMMULITE 1000, como auxílio na monitorização da administração terapêutica deste broncodilatador.

Números de catálogo: **LKTN1** (100 testes), **LKTN5** (500 testes)

Código do teste: **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 subterapêuticos, 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 subterapêuticas 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

O IMMULITE/IMMULITE 1000 Teofilina é um imunoensaio competitivo de fase sólida, de enzimas químico-luminosas.

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, directrizes devem ser seguidas 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 dose intravenosa seguida 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 Colheita de amostras seriadas compatíveis com a dosagem apropriada para cada situação clínica devem ser empregues.

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/IMMULITE 1000 Teofilina não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos.

Volume de amostra: 50 µL de soro. (Vaso de amostra deve conter um mínimo de 100 µL a mais que o volume total exigido.)

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

Tubos com SST: Estudos dos fabricantes mostraram que os tubos de vácuo da Becton Dickinson com SST®, podem dar origem a valores mais elevados nos ensaios de fármacos (TDM).

Diluição de amostras: Todas as amostras em que se esperam níveis acima da calibração do doseamento devem ser diluídas antes do doseamento com Diluente de Amostra de Teofilina.

Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

Reagentes: Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite

B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

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.

Foi adicionado Clorafenicol em concentrações inferiores a 0,1 g/dL, como conservante. O Clorafenicol é conhecido como causa de cancro; esta divulgação é exigida pelo estado da Califórnia.

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

Água: Use água destilada ou deionizada.

Materiais fornecidos

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

Unidades de Teste de Teofilina (LTN1)

Cada unidade marcada com código de barras contém uma pérola revestida com anticorpo anti-teofilina policlonal de coelho. Estável até a data de validade a 2–8°C.

LKTN1: 100 unidades.

LKTN5: 500 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela borda superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

Embalagem de Reagente de Teofilina (LTN2)

Com código de barras. Contém 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com teofilina, tamponizada com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

LKTN1: 1 embalagem.

LKTN5: 5 embalagens.

Ajustes de Teofilina (LTNL, LTNH)

Contém dois frascos (nível alto e baixo) cada um contendo 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.

LKTN1: 1 conjunto. **LKTN5:** 2 conjuntos.

Componentes do kit fornecidos separadamente

Diluíente de Amostra de Teofilina (LTNZ)

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco com 25 mL em matriz de soro humano processado, sem teofilina. Estável, após a abertura, durante 30 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

LSUBX: Substrato quimioluminescente

LPWS2: Solução de lavagem

LKPM: Kit de limpeza do pipetador

LCHx-y: Suportes de Cuvetes de Amostra (com código de barras)

LSCP: Cuvetes de Amostra (descartáveis)

LSCC: Tampa de Cuvetes de Amostra (opcional)

SDCM: Módulo de Controlo de Drogas em Soro.

Também necessário

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos.

Procedimento de doseamento

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da esfera em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

Intervalo entre ajustes aconselhável: 2 semanas.

Amostras de controlo de qualidade:

utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de teofilina.

Faixa terapêutica

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.

- 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 imunoensaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

Características do Ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance 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 Intra-ensaio (Entre ensaio): Estatísticas foram calculadas para amostras dos resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Ver a tabela de "Intraassay Precision")

Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio): Estatísticas foram calculadas para amostras doseadas em 20 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Interassay Precision").

Linearidade: As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

Recuperação: As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções teofilina (108, 230 e 428 µg/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

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

Bilirrubina: A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito em resultados, dentro da precisão do ensaio.

Hemolise: A Presença de eritrócitos em concentrações até 30 µL/mL não tem efeito no resultado, dentro da precisão do ensaio.

Comparação de Métodos: O doseamento foi comparado ao Coat-A-Count Teofilina da DPC em 59 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 1 a 34 µg/mL. Vêr gráfico.) Regressão linear:

(IML) = 1,07 (CAC) – 1,32 µg/mL
r = 0,97

Médias:

11,3 µg/mL (IMMULITE)
11,8 µg/mL (Coat-A-Count)

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
2005-09-20
PILKTN – 5



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