

IVD Per uso diagnostico in vitro

Solo su prescrizione medica

REF 100018 (kit da 13 mL, 11 mL)

Uso previsto

Il test CEDIA™ Tobramycin II Assay è uno strumento diagnostico in vitro previsto per la determinazione quantitativa del fenobarbitale nel plasma o siero umano.

Riepilogo e spiegazione del test

La tobramicina è un antibiotico aminoglicoside usato nel trattamento delle infezioni da *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus species*, *E. coli*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter* e altri microorganismi. L'effetto tossico della tobramicina è prodotto dall'interferenza con la sintesi delle proteine del ribosoma.¹ La tobramicina subisce una metabolizzazione molto limitata o quasi nulla e viene quindi eliminata come composto progenitore attraverso filtrazione glomerulare.

L'intervallo terapeutico va misurato sia alle concentrazioni di picco che alle concentrazioni di valle. Si consiglia di ottenere le concentrazioni sieriche o plasmatiche di picco della tobramicina per accertarsi che sia in atto l'adeguata attività antimicrobica. Le concentrazioni di valle della tobramicina garantiscono generalmente l'adeguata eliminazione del farmaco e che la concentrazione di farmaco sia superiore alla concentrazione inibitoria minima. La concentrazione di tobramicina nel siero o nel plasma varia a seconda del metodo di somministrazione, del volume di fluido extracellulare, della durata del trattamento e delle mutazioni fisiologiche nel corso della malattia e della terapia. Il monitoraggio dei livelli di tobramicina di picco e di valle nel siero o nel plasma è di fondamentale importanza ai fini della prevenzione di queste gravi complicanze grazie alla regolazione della dose somministrata come indicato.²

CEDIA Tobramycin II Assay è un immunodosaggio enzimatico omogeneo che si avvale della tecnologia del DNA ricombinante (brevetto USA n. 4708929).³

Il test è basato sull'enzima batterico β -galattosidasi, che è stato ingegnerizzato geneticamente in due frammenti inattivi: l'accettore enzimatico (EA) e il donatore enzimatico (ED). Questi frammenti si riassociano spontaneamente per formare un enzima pienamente attivo in grado di legarsi, nel formato del test, ad un substrato, dando luogo ad una variazione cromatica misurabile spettrofotometricamente.

Nel test, l'analita nel campione compete con l'analita coniugato a un frammento inattivo di β -galattosidasi per il sito di legame anticorpale. Se nel campione è presente l'analita, si lega all'anticorpo, lasciando i frammenti di enzima inattivo liberi di formare l'enzima attivo. Se l'analita non è presente nel campione, l'anticorpo si lega all'analita coniugato del frammento inattivo, inibendo la riassociazione dei frammenti inattivi di β -galattosidasi, senza formazione di enzima attivo. La quantità di enzima attivo formata e la variazione di assorbanza risultante sono direttamente proporzionali alla quantità di farmaco presente nel campione.³

Reagenti

- Tampone di ricostituzione per EA:** contiene acido 3-[N-morfolino]-propanosulfonico, sali tampone, surfattante e conservante (13 mL).
- 1a Reagente per EA:** contiene 0,22 g/L di accettore enzimatico, 25,5 mg/L di anticorpo monoclonale anti-tobramicina, sali tampone, proteina vettore, stabilizzante e conservante.
- Tampone di ricostituzione per ED:** contiene acido 3-[N-morfolino]-propanosulfonico, sali tampone, surfattante e conservante (11 mL).
- 2a Reagente per ED:** contiene 23,4 μ g/L di donatore enzimatico coniugato con tobramicina, 2,4 g/L di rosso di clorofenolo- β -D-galattopiranoside, 3,3 g/L di anticorpi di capra anti-topo, sali tampone, stabilizzante e conservante.

Materiali aggiuntivi richiesti (venduti separatamente):

REF	Descrizione del kit
100017	CEDIA Antibiotic TDM Multi-Cal

Controllo/i commerciale/i - Rivolgersi al servizio di assistenza tecnica per ottenere raccomandazioni

⚠️ Precauzioni e avvertenze

PERICOLO: I reagenti contengono $\leq 35\%$ di antisieri IgG (capra), $\leq 21\%$ di albumina sierica bovina (BSA), $\leq 5\%$ di fosfato di sodio, monobasico, 5% di fosfato di sodio, dibasico, anidro, $\leq 0,6\%$ di sodio azeide e $\leq 0,2\%$ di anticorpo specifico del farmaco. Evitare il contatto con la pelle e le membrane mucose. Sciacquare le aree interessate con abbondante acqua. In caso di contatto con gli occhi o di ingestione consultare immediatamente il medico. Il sodio azeide può reagire con tubazioni in piombo o rame formando azidi metalliche potenzialmente esplosive. Prima di smaltire tali reagenti, sciacquare sempre con grandi quantità di acqua per evitare la formazione di azidi. Pulire le superfici metalliche esposte con idrossido di sodio al 10%.

- H315 - Provoca irritazione cutanea.
- H317 - Può causare una reazione allergica cutanea.
- H319 - Provoca grave irritazione oculare.
- H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.
- EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta

e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Preparazione e conservazione dei reagenti

Per la preparazione delle soluzioni per gli analizzatori Hitachi, vedere più avanti. Per tutti gli altri analizzatori, fare riferimento al foglio applicativo specifico dell'analizzatore.

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

Preparare le soluzioni nel seguente ordine, in modo da ridurre al minimo l'eventuale contaminazione.

Soluzione R2 di donatore enzimatico: collegare il flacone 2a (reagente per ED) al flacone 2 (tampone di ricostituzione per ED) usando uno degli adattatori in dotazione. Miscelare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a sia trasferito nel flacone 2. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 2a e l'adattatore dal flacone 2 e gettarli. Tappare il flacone 2 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25 °C). Miscelare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o riporlo in uno scomparto di conservazione refrigerata e lasciarlo riposare per 30 minuti prima dell'uso.

Soluzione R1 di accettore enzimatico: collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 (tampone di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori in dotazione. Miscelare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a sia trasferito nel flacone 1. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 1a e l'adattatore dal flacone 1 e gettarli. Tappare il flacone 1 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25 °C). Miscelare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o riporlo in uno scomparto di conservazione refrigerata e lasciarlo riposare per 30 minuti prima dell'uso.

NOTA 1: i componenti forniti in questo kit sono destinati a essere utilizzati insieme come un'unità integrata. Non usare componenti di lotti diversi.

NOTA 2: per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, abbinare sempre i tappi ai rispettivi flaconi. La soluzione R2 (donatore enzimatico) deve essere di colore giallo-arancione. Un colore rosso o viola-rosso indica la contaminazione del reagente, che deve quindi essere eliminato.

NOTA 3: prima dell'esecuzione del test, le soluzioni R1 e R2 devono essere portate alla temperatura di conservazione dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio applicativo relativo all'analizzatore in dotazione.

NOTA 4: per garantire la stabilità della soluzione per EA ricostituito, proteggerlo dall'esposizione prolungata e continua alla luce intensa.

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

Soluzione R1: 30 giorni refrigerata nell'analizzatore oppure a 2-8 °C.

Soluzione R2: 30 giorni refrigerata nell'analizzatore oppure a 2-8 °C.

Prelievo e trattamento dei campioni

Campioni di siero o plasma (Na o Li eparina; Na EDTA) sono idonei per l'uso con il test. Non indurre la formazione di schiuma ed evitare congelamenti e scongelamenti ripetuti per proteggere l'integrità del campione dal momento del prelievo fino all'esecuzione dell'analisi. Centrifugare i campioni contenenti particolato. Tappare i campioni, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C ed eseguire l'analisi entro 1 settimana dal prelievo. Se non è possibile eseguire l'analisi entro 1 settimana o se il campione deve essere spedito, tappare il campione e conservarlo congelato. Conservare i campioni a -20 °C e analizzarli entro 4 settimane. Trattare tutti i campioni dei pazienti come se fossero potenzialmente infettivi.

Procedura del test

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

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

Controllo di qualità e calibrazione⁴

Si consiglia di eseguire la calibrazione a due punti

- dopo ogni cambio del flacone del reagente
- dopo ogni cambio del lotto del reagente
- in base a quanto previsto dalle procedure di controllo di qualità

Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi di almeno due livelli (punti di decisione medici alto e basso) di controllo della qualità ogni giorno in cui si esegue l'analisi dei campioni dei pazienti e ad ogni calibrazione. Monitorare i valori dei controlli, verificando eventuali trend o variazioni. Se si individuano tendenze o deviazioni, o se il controllo non recupera una quantità di farmaco entro il range specificato, esaminare tutti i parametri operativi. Contattare l'assistenza tecnica per i clienti per ulteriore supporto. Tutti i requisiti di controllo di qualità devono essere soddisfatti in conformità alle normative locali, statali e/o federali vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

Risultati e valori attesi

Il test CEDIA Tobramycin II Assay è indicato per la quantificazione di campioni di pazienti con valori compresi tra 0,24 µg/mL e il valore del calibratore alto Antibiotic TDM (12 µg/mL). I risultati dei campioni inferiori a 0,24 µg/mL vanno refertati come < 0,24 µg/mL. I risultati dei campioni con quantificazione superiore a 12 µg/mL possono essere refertati come > 12 µg/mL; in alternativa, diluire una parte di campione con una parte di calibratore basso Antibiotic TDM e rianalizzare. Il valore ottenuto da questa nuova analisi deve essere derivato secondo la formula seguente:

Valore effettivo = (2 x valore diluito) - conc. del calibratore basso Antibiotic TDM

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

$$\begin{aligned} \mu\text{g/mL} \times 2,14 &= \mu\text{mol/L} \\ \mu\text{mol/L} \times 0,47 &= \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

L'efficacia terapeutica e gli effetti tossici sono strettamente correlati alla concentrazione sierica del farmaco. Nella maggior parte degli adulti, una risposta terapeutica di picco è ottenuta con concentrazioni di tobramicina nell'intervallo compreso tra 6 e 10 µg/mL e con concentrazioni di valle comprese tra 0,5 e 2,0 µg/mL.⁵ Altri ricercatori hanno inoltre riportato intervalli terapeutici differenti per la tobramicina.^{5,7}

Limitazioni

1. L'incidenza di pazienti con anticorpi contro E. coli β-galattosidasi è estremamente bassa. Tuttavia, alcuni campioni che contengono questi anticorpi possono dare risultati artificialmente elevati che non rientrano nel profilo clinico.
2. La kanamicina A (> 10%), la kanamicina B (> 100%) e la dideossikanamicina (> 100%) mostrano significativa interferenza il test CEDIA Tobramycin II Assay.
3. Come con qualsiasi test che impiega anticorpi murini, esiste la possibilità che gli anticorpi umani anti-murini (HAMA) interferiscano nel campione, generando risultati falsamente elevati.

Caratteristiche specifiche di prestazione

Di seguito, sono riportati i risultati delle prestazioni tipici ottenuti con l'analizzatore Hitachi 704.⁸ I risultati ottenuti nel proprio laboratorio potrebbero differire da questi valori.

Precisione

Sieri di controllo e pool di sangue umano sono stati analizzati per valutare la precisione su un analizzatore Hitachi in base alle direttive della prova di replicazione NCCLS modificata. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

	Precisione durante l'esecuzione			Precisione totale		
n	20	20	20	53	53	53
\bar{x} (µg/mL)	1,80	5,06	9,12	1,95	5,32	9,54
SD (µg/mL)	0,09	0,10	0,12	0,12	0,19	0,30
% CV	5,0	2,0	1,3	6,2	3,6	3,1

Confronto tra metodi

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

$$\begin{aligned} \text{Regressione lineare} \\ y &= -0,01 + 0,989x \\ r &= 0,993 \end{aligned}$$

Numero di campioni misurati: 102

Linearità

È stato diluito un campione alto con il calibratore basso Antibiotic TDM. Il recupero percentuale è stato determinato dividendo il valore misurato per il valore atteso.

% campione elevato	Valore atteso (µg/mL)	Valore analizzato (µg/mL)	% recupero
100	-	11,7	-
75	8,8	9,1	104
50	5,9	6,2	106
25	2,9	3,0	103

Recupero

Ad un campione di paziente basso è stata aggiunta tobramicina sotto forma di un campione di paziente alto (corretto). Il recupero percentuale è stato determinato dividendo il valore misurato per il valore atteso.

% campione elevato	Valore atteso (µg/mL)	Valore analizzato (µg/mL)	% recupero
100	-	10,1	-
75	7,6	7,7	101
50	5,1	5,1	101
25	2,6	2,5	96

Specificità

Il test CEDIA Tobramycin II Assay è altamente specifico, mostrando una bassissima reattività crociata con sostanze strutturalmente simili o con farmaci simultaneamente somministrati. La reattività crociata è clinicamente insignificante (< 0,3%) per i seguenti composti.

Composto	Composto	Composto
5-fluorocitosina	Acido etacrinico	Rifampicina
Amikacina	Furosemide	Sisomicina
Amfotericina	Acido fusidico	Spectinomina
Ampicillina	Gentamicina	Streptomina
Carbencillina	Lincomicina	Sulfadiazina
Cefamandolo nafato	Meticillina	Sulfametossazolo
Cefalexina	Metotrexato	Sulfanilamide
Cefalopina	Metilprednisolone	Sultiame
Cefalosporina C	Neomicina	Tetraciclina
Cefaloridina	Netilmicina	Ticarcillina
Cefalotina	Ossitetraciclina	Trimetoprim
Cloramfenicolo	Penicillina G	Vancomicina
Clindamicina	Penicillina V	
Eritromicina	Prednisolone	

Le seguenti sostanze non hanno dimostrato alcuna interferenza con il test CEDIA Tobramycin II Assay:

Sostanza	Concentrazione	Sostanza	Concentrazione
Bilirubina	≤ 60 mg/dL	IgM	≤ 900 mg/dL
Emoglobina	≤ 1000 mg/dL	Fattore reumatoide	≤ 1200 IU/mL
IgA	≤ 2700 mg/dL	Proteine totali	≤ 13,2 g/dL
IgG	≤ 4900 mg/dL	Trigliceridi	≤ 1000 mg/dL

Sensibilità

La concentrazione minima rilevabile del test CEDIA Tobramycin II Assay è di 0,24 µg/mL (0,51 µmol/L)

Bibliografia

1. Le Goffic F, Capmav ML, Tangy F, Baillarge M. Mechanism of Action of Aminoglycoside Antibiotics, Binding Studies of Tobramycin and Its 6'-N-acetyl derivatives to the Bacterial Ribosome and its Subunits. Eur. J. Biochem. 1979;102, 73-81.
2. Sande MA, Mandell GL. Antimicrobial Agents, The Aminoglycosides. In: Gilman, A.G. Goodman, L.S. and Gilman, A. eds. The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York: MacMillan Publishing Company, 1980:1162-1180.
3. Henderson DR, Friedman SF, Harris JD, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA, A New Homogeneous Immunoassay System. Clin. Chem. 1986; 32(9): 1637-1641.
4. I dati sulla tracciabilità sono disponibili su file presso Microgenics Corporation, parte di Thermo Fisher Scientific.
5. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 1990, 3rd edition, pp. 805-807.
6. Dipersio JR. Gentamicin and Other Aminoglycosides. In: Pesce AJ, Kaplan LA, eds. Methods in Clinical Chemistry, C.V. Mosby Co., 1987
7. Lew M. Interpretation of Aminoglycoside Serum Levels. Hosp. Pharm. 1979; 14: 465-472.
8. I dati sono disponibili su file presso Microgenics Corporation, parte di Thermo Fisher Scientific.

Glossario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Assistenza clienti e
tecnica USA:
+1-800-232-3342



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



Per aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare il sito:
www.thermofisher.com/diagnostics

Altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific locale.

10003771-8-IT
2019 07

thermo
scientific