

Dosaggio DRI® Serum Tox per barbiturici

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Per uso diagnostico in vitro

REF 0911 (kit da 25 mL, 8 mL)

Uso previsto

Il dosaggio DRI® Serum Tox per barbiturici è indicato per la determinazione qualitativa e semiquantitativa dei barbiturici nel siero o plasma umano usando un calibratore da 1 µg/mL come valore limite.

Questo dosaggio fornisce unicamente un risultato analitico preliminare. Per ottenere un risultato analitico di conferma, è necessario utilizzare un metodo chimico alternativo a specificità più elevata. Il metodo di conferma più idoneo è la gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).^{1,2} Qualsiasi risultato di analisi riguardante sostanze stupefacenti, soprattutto nel caso di risultati preliminari positivi, va trattato con la considerazione clinica e la discrezione professionale opportuna.

Sommario e spiegazione del test

Svariati barbiturici, quali secobarbitale (ad azione breve) e fenobarbitale (ad azione lunga), sono farmaci d'abuso. L'abuso di barbiturici può causare depressione respiratoria o, nei casi gravi, portare al coma. La concentrazione terapeutica sierica e il livello tossico di ciascun barbiturico sono differenti. Inoltre, i pazienti che fanno uso abituale di barbiturici, in particolar modo coloro che ne sono assuefatti, possono tollerare dosi molto più alte rispetto ai soggetti che non ne fanno un uso abituale. Date le ampie variazioni nella tolleranza individuale e la variazione nei livelli tossici associati a ciascun barbiturico, gli immunodosaggi per tossicità del siero sono utili principalmente per determinare la presenza dell'agente in questione. Si dovrà usare un metodo chimico alternativo per determinare l'identità e l'esatta concentrazione del barbiturico specifico. La determinazione del tipo di barbiturico ingerito consente di mettere in atto una terapia mirata contro l'intossicazione da barbiturici.³ Sebbene il rilevamento di barbiturici nell'urina possa essere utilizzato come indice dell'uso di barbiturici, il dosaggio Serum Tox per barbiturici riveste un'importanza critica nelle situazioni di emergenza, in cui può essere difficoltoso ottenere un campione di urina.

Esistono molte tecniche convenzionali (come la TLC, GC, GLC e HPLC) per l'analisi dei farmaci d'abuso nei fluidi biologici. Gli immunodosaggi, basati sul riconoscimento specifico del farmaco d'abuso da parte dell'anticorpo corrispondente, sono ora disponibili per applicazioni di screening su larga scala. Il dosaggio DRI Serum Tox per barbiturici è un immunodosaggio enzimatico omogeneo con reagenti liquidi pronti per l'uso.⁴ Il dosaggio utilizza anticorpi specifici che individuano la maggioranza dei barbiturici nel siero. L'analisi si basa sulla competizione di sostanza stupefacente marcata con enzima glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) con la sostanza stupefacente contenuta nel campione per un numero fisso di siti di legame anticorpale specifico. In assenza di sostanza stupefacente nel campione, l'anticorpo si lega alla sostanza stupefacente marcata con G6PDH e l'attività enzimatica risulta inibita. In presenza di sostanza stupefacente nel campione, la sostanza stupefacente occupa i siti di legame anticorpale e lascia libera e attiva la sostanza stupefacente marcata con G6PDH. Questo fenomeno crea una relazione diretta tra la concentrazione della sostanza nel campione e l'attività enzimatica. L'attività enzimatica viene determinata spettrofotometricamente a 340 nm misurando la sua capacità di convertire nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) in NADH.

Reagenti

Reagente anticorpo/substrato: contiene anticorpi anti-barbiturici policlonali, glucosio-6-fosfato (G6P), e nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) in tampone Tris con sodio azide come conservante.

Reagente coniugato enzimatico: contiene derivato dell'acido barbiturico marcato con glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) in tampone Tris con sodio azide come conservante.

Ulteriori materiali necessari (venduti separatamente):

REF	Descrizione del kit
0962	Calibratore negativo DRI Serum Tox, 10 mL
0963	Calibratore DRI Serum Tox 1, 5 mL
0965	Calibratore DRI Serum Tox 2, 5 mL
0967	Calibratore DRI Serum Tox 3, 5 mL
0976	Calibratore DRI Serum Tox 4, 5 mL

⚠ Avvertenze e precauzioni

I reagenti sono nocivi se ingeriti.

PERICOLO: Il dosaggio DRI Serum Tox per barbiturici contiene ≤ 0,2% di albumina sierica bovina (BSA) e ≤ 0,5% di anticorpi farmaco-specifici.

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

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

Evitare di respirare la polvere o i vapori. 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.

I reagenti del dosaggio contengono ≤0,09% sodio azide. Evitarne il contatto con la pelle e le mucose. In caso di contatto, sciacquare le aree interessate con abbondanti quantità di acqua. Se i reagenti vengono ingeriti o vengono a contatto con gli occhi, rivolgersi immediatamente ad un medico. Il sodio azide può reagire con il rame o il piombo delle tubature di scarico generando azidi metalliche potenzialmente esplosive. Quando si gettano via tali reagenti, sciacquare sempre con abbondanti quantità di acqua per impedire l'accumulo di azidi. Pulire le superfici metalliche esposte con una soluzione di idrossido di sodio al 10%.

Non usare i reagenti scaduti.

Preparazione e conservazione dei reagenti

I reagenti sono pronti per l'uso. Non richiede alcuna preparazione del reagente. Tutti i componenti del dosaggio, quando conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle rispettive etichette.

Raccolta e trattamento del campione

L'immunodosaggio può essere eseguito su siero o plasma. Anticoagulanti come eparina, citrati, ossalati ed EDTA non hanno provocato alcuna interferenza con il dosaggio. I campioni di plasma prelevati con tali anticoagulanti possono quindi essere utilizzati per l'analisi, sebbene si preferisca un campione di siero fresco. Conservare il campione in frigorifero. È necessario fare il possibile per mantenere i campioni pipettati privi di residui solidi.

Trattare tutti i campioni di siero come se fossero potenzialmente infettivi.

Procedura di analisi

Ai fini del presente immunodosaggio enzimatico omogeneo è possibile utilizzare gli analizzatori di chimica clinica in grado di mantenere una temperatura costante, pipettare i campioni, miscelare i reagenti, misurare i tassi enzimatici a 340 nm e regolare con precisione i tempi di reazione. Prima di eseguire il dosaggio, consultare il foglio del protocollo applicativo specifico per l'analizzatore in dotazione, contenente i parametri e/o ulteriori istruzioni per l'uso.

Controllo di qualità e calibrazione

Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi di campioni di controllo allo scopo di garantire le corrette prestazioni del dosaggio. Per convalidare la calibrazione, usare controlli con concentrazioni vicine a quella del calibratore per valore limite. I risultati dei controlli devono rientrare nel range prestabilito. Se i risultati non rientrano nel range prestabilito, i risultati dell'analisi non sono validi. Tutti i requisiti di controllo della qualità vanno soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

Analisi qualitativa

Per l'analisi qualitativa dei campioni, usare il calibratore da 1 µg/mL come livello limite. Il calibratore DRI Serum Tox 2, contenente 1 µg/mL di secobarbitale, viene usato come valore limite per la distinzione tra i campioni positivi e i campioni negativi.

Analisi semiquantitativa

Per l'analisi semiquantitativa, usare tutti i calibratori.

Risultati e valori attesi

Risultati qualitativi

Un campione con una variazione del valore di assorbanza (ΔA) uguale o maggiore rispetto a quello ottenuto dal calibratore per il valore limite è considerato positivo. Un campione con una variazione del valore di assorbanza (ΔA) inferiore a quello ottenuto dal calibratore per il valore limite è considerato negativo.

Risultati dell'analisi semiquantitativa

Per ottenere una stima approssimativa della concentrazione di sostanza nei campioni, tracciare una curva standard con tutti i calibratori e misurare i campioni che ricadono al di fuori della curva standard.

Gli immunodosaggi che producono un unico risultato in presenza di una classe di farmaci, come i barbiturici, non sono in grado di misurare con precisione la concentrazione di ciascun singolo componente. Per l'applicazione qualitativa, un risultato positivo indica solo la presenza di barbiturici. Per l'applicazione semiquantitativa, il dosaggio fornisce una concentrazione cumulativa approssimata di barbiturici.

Limitazioni

1. Un risultato di analisi positivo indica solo la presenza di barbiturici e non è correlato necessariamente all'intensità degli effetti fisiologici e psicologici.
2. Un risultato di analisi positivo ottenuto mediante il presente dosaggio va confermato mediante un altro metodo di tipo non immunologico, come la GC, la TLC, la HPLC o la GC/MS.
3. Il dosaggio è previsto per essere eseguito unicamente su siero o plasma umano.
4. Altre sostanze e/o fattori (ad es. problemi tecnico-procedurali) differenti da quelli sottoposti ad esame nello studio specifico, possono interferire con l'analisi e causare risultati falsi.

Caratteristiche specifiche delle prestazioni del test

Le caratteristiche di rendimento del test tipiche ottenibili mediante l'analizzatore Hitachi 717 sono riportate qui di seguito.⁵ I valori ottenuti nei diversi laboratori possono essere differenti da quelli riportati in questa sede.

Precisione

La precisione intra-analisi e da analisi ad analisi è stata determinata impiegando i calibratori Serum Tox e ha dato i seguenti risultati.

Qualitativa:

Calibratore	Intra-analisi (n=20)		Da analisi ad analisi (n=12)	
	Media ± DS (mA/min)	CV (%)	Media ± DS (mA/min)	CV (%)
Negativo	217 ± 1,9	0,9	216 ± 2,7	1,2
0,5 µg/mL	273 ± 1,1	0,4	270 ± 1,6	0,6
1,0 µg/mL	311 ± 2,5	0,8	311 ± 1,9	0,6
3,0 µg/mL	371 ± 3,8	1,0	371 ± 1,6	0,4
6,0 µg/mL	431 ± 3,3	0,8	437 ± 3,5	0,8

Semiquantitativa:

Campione	Intra-analisi (n=20)		Da analisi ad analisi (n=12)	
	Media ± DS (µg/mL)	CV (%)	Media ± DS (µg/mL)	CV (%)
01	0,62 ± 0,05	8,1	0,67 ± 0,07	10,4
02	1,14 ± 0,09	7,9	1,17 ± 0,08	6,8

Recupero

Una serie di campioni negativi è stata corretta con concentrazioni note di secobarbitale e analizzata con questo test per rilevare la presenza di barbiturici. Il recupero del secobarbitale è compreso nell'intervallo tra 91,7% e 102,1%.

Accuratezza

Ottantanove campioni di siero clinici sono stati analizzati con il dosaggio EIA di DRI e un metodo GC/MS per barbiturici. Sessantasei campioni sono risultati positivi e dieci sono risultati negativi con entrambi i metodi. Tredici campioni sono risultati negativi con un dosaggio DRI ed è risultato che contenevano basso livello di barbiturici diversi dal secobarbitale con il metodo GC/MS.

Sensibilità

La sensibilità, definita come la concentrazione più bassa differenziabile da 0 µg/mL con una confidenza del 95%, è di 0,07 µg/mL.

Specificità

Sono stati analizzati diversi barbiturici e sostanze potenzialmente interferenti per rilevare l'eventuale reattività crociata. La tabella 1 riassume le concentrazioni a cui determinati barbiturici sono risultati positivi a questo dosaggio. La tabella 2 elenca le concentrazioni delle sostanze potenzialmente interferenti che hanno prodotto un risultato negativo.

Tabella 1: I composti correlati strutturalmente che hanno prodotto un risultato positivo alle concentrazioni elencate.

Composto	Concentrazione analizzata (µg/mL)
Amobarbitale	10
Aprobarbitale	4
Barbitale	45
Butabarbitale	7
Butalbitale	3
Fenobarbitale	10
Pentobarbitale	12
Secobarbitale	1
Talbutale	2

Tabella 2: I composti non correlati strutturalmente che hanno prodotto un risultato negativo alle concentrazioni elencate.

Composto	Concentrazione analizzata (µg/mL)
Acido acetilsalicilico	1.000
d-Amfetamina	1.000
Amitriptilina	100
Caffeina	100
Diazepam	100
Fenciclidina	1.000
Fenitoina	100
Glutetimide	80
p-Idrossifenitoina	100
Meperidina	1.000
Metadone	1.000
Metaqualone	100
Morfina	1.000
Oxazepam	100
Paracetamolo	1.000
Primidone	100
Propossifene	1.000

Bibliografia

1. Urine Testing for Drug of Abuse. National Institute on Drug Abuse (NIDA) Research Monograph 73, (1986).
2. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program. National Institute on Drug Abuse. Federal Register Vol. 53, No 69, pp 11970 (1988).
3. Hadden J. et al: Acute barbiturate intoxication. JAMA 209: 893-900 (1969). Dati disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.
4. Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman: Homogeneous enzyme immunoassay: a new immunochemical technique. Biochem Biophys Res Commun 47:846-851 (1972).
5. Dati disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.



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



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



Per gli aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.