

# Dosaggio DRI® Serum Tox per benzodiazepina

**Thermo**  
SCIENTIFIC

**IVD** Per uso diagnostico in vitro

**REF** 0920 (kit da 25 mL, 8 mL)

## Uso previsto

Il dosaggio DRI® Serum Tox per benzodiazepina è indicato per la determinazione qualitativa e semiquantitativa delle benzodiazepine nel siero o plasma umano.

**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 preferito è la gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).<sup>1,2</sup> Qualsiasi risultato di analisi riguardante sostanze stupefacenti, soprattutto nel caso di risultati preliminari positivi, va trattato con la considerazione clinica e la discrezione professionale opportune.**

## Sommario e spiegazione del test

Le benzodiazepine sono farmaci sedativo-ipnotici d'abuso. Il termine benzodiazepine abbraccia un'ampia varietà di farmaci strutturalmente simili, come alprazolam, clordiazeposside, diazepam, lorazepam, oxazepam e triazolam. Le concentrazioni terapeutiche sieriche e i livelli tossici di ciascuna benzodiazepina sono differenti. Inoltre, i pazienti che fanno uso abituale di benzodiazepine, in particolare modo coloro che ne sono assuefatti, potrebbero 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 ciascuna benzodiazepina, 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 della specifica benzodiazepina. Riuscire a determinare il tipo di benzodiazepina ingerita consentirà di mettere in atto una terapia mirata contro l'intossicazione da benzodiazepine. Sebbene la presenza di benzodiazepine nell'urina possa essere utilizzata come indice dell'uso di benzodiazepine, il dosaggio DRI Serum Tox per le benzodiazepine riveste un'importanza critica nelle situazioni di emergenza, in cui può essere difficile 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 benzodiazepine è un immunodosaggio enzimatico omogeneo<sup>3</sup> con reagenti liquidi pronti per l'uso. Il dosaggio utilizza anticorpi specifici che individuano la maggioranza delle benzodiazepine e i loro metaboliti nel siero. L'analisi si basa sulla competizione di sostanza stupefacente marcata con enzimi, glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) e 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 specifico 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 del farmaco nel campione e l'attività enzimatica. L'attività dell'enzima G6PDH viene determinata spettrofotometricamente a 340 nm misurando la sua capacità di convertire la nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) in NADH.

## Reagenti

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

**Reagente coniugato enzimatico:** contiene derivato delle benzodiazepine 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 Serum Tox, 10 mL
0963	Calibratore Serum Tox 1, 5 mL
0965	Calibratore Serum Tox 2, 5 mL
0967	Calibratore Serum Tox 3, 5 mL
0976	Calibratore Serum Tox 4, 5 mL

## ⚠ Avvertenze e precauzioni

Nocivo se ingerito.

**PERICOLO:** il dosaggio Serum Tox DRI per benzodiazepina contiene  $\leq 0,2\%$  di albumina sierica bovina (BSA) e  $\leq 0,5\%$  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  $\leq 0,09\%$  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 dei reagenti. 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 macroscopici.

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

## Procedura di analisi

Ai fini del presente dosaggio è possibile utilizzare gli analizzatori chimico-clinici 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 50 ng/mL come livello limite. Il calibratore DRI Serum Tox 2, contenente 50 ng/mL di diazepam, 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 ( $\Delta A$ ) 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 ( $\Delta A$ ) 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 le benzodiazepine, 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 benzodiazepine. Per l'applicazione semiquantitativa, il dosaggio fornisce una concentrazione cumulativa approssimata di benzodiazepine.

## Limitazioni

- Un risultato di analisi positivo indica solo la presenza di benzodiazepine e non si correla con l'intensità degli effetti fisiologici e psicologici.
- Un risultato di analisi positivo ottenuto mediante il presente dosaggio va confermato mediante un altro metodo di tipo non immunologico generalmente accettato, come la GC, la TLC, la HPLC o la GC/MS.
- Il dosaggio è previsto per essere eseguito unicamente su siero o plasma umano.
- Altre sostanze e/o fattori (come ad esempio elementi tecnici o procedurali) diversi da quelli considerati nello studio di specificità possono interferire con l'analisi e dare luogo a risultati falsi.

### Caratteristiche specifiche delle prestazioni del test

Le caratteristiche di rendimento del test tipiche ottenibili mediante un analizzatore Hitachi 717 sono riportate qui di seguito.<sup>4</sup> 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	330 ± 2,0	0,6	330 ± 0,8	0,2
50 ng/mL	408 ± 3,7	0,9	404 ± 1,7	0,4
100 ng/mL	480 ± 2,1	0,4	482 ± 0,9	0,2
200 ng/mL	554 ± 3,9	0,7	552 ± 1,4	0,3

#### Semiquantitativa:

Campione	Intra-analisi (n=20)		Da analisi ad analisi (n=12)	
	Media ± DS (mA/min)	CV (%)	Media ± DS (mA/min)	CV (%)
01	77,8 ± 0,9	1,1	78,3 ± 2,9	3,7
02	115,3 ± 0,7	0,6	118,6 ± 3,4	2,9

#### Recupero

Una serie di campioni di siero negativi è stata corretta con concentrazioni note di diazepam e analizzata con questo test per rilevare la presenza di benzodiazepine. Il recupero del diazepam è compreso nell'intervallo tra 89,3% e 98%.

#### Accuratezza

Centonove campioni clinici sono stati analizzati per rilevare la presenza di benzodiazepine mediante il dosaggio DRI Serum Tox per benzodiazepine e mediante HPLC. Ottantacinque campioni sono risultati positivi e dodici sono risultati negativi con entrambi i metodi mentre dodici campioni sono risultati positivi mediante HPLC e negativi con il dosaggio DRI. La concentrazione delle benzodiazepine in questi dodici campioni discordanti era  $\geq 10$  ng/mL ma  $\leq 50$  ng/mL con l'HPLC.

#### Sensibilità

La sensibilità, definita come la concentrazione più bassa differenziabile da 0 ng/mL con una confidenza del 95%, è di 10 ng/mL.

#### Specificità

Sono state analizzate diverse benzodiazepine e sostanze potenzialmente interferenti per rilevare l'eventuale reattività crociata con il dosaggio. La tabella 1 contiene un elenco delle concentrazioni a cui le benzodiazepine sono risultate positive a questo dosaggio. La tabella 2 elenca la concentrazione delle sostanze potenzialmente interferenti che ha prodotto un risultato negativo.

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

Composto	(ng/mL)	Composto	(ng/mL)
Alprazolam	50	Lorazepam	2.000
Bromazepam	4.000	Medazepam	150
Clordiazepossido	20.000	Nitrazepam	300
Clonazepam	1.000	Norclordiazepossido	20.000
Clorazepato	150	Nordiazepam	100
Delorazepam	2.000	Oxazepam	1.000
Desalchilflurazepam	50	Oxazolam	100.000
Diazepam	50	Prazepam	50
Flunitrazepam	50	Temazepam	100
Flurazepam	250	Triazolam	150
Halazepam	125		

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

Composto	(µg/mL)	Composto	(µg/mL)
Acido acetilsalicilico	1.000	Imipramina	100
Acido valproico	500	Meperidina	100
d-Amfetamina	1.000	Metadone	1.000
Amitriptilina	100	Metaqualone	1.000
Caffeina	100	Metsuccimide	50
Carbamazepina	100	Morfina	200
Dextrometorfano	1.000	Paracetamolo	1.000
Fenciclidina	1.000	Primidone	100
Fenitoina	100	Propossifene	1.000
Fenobarbitale	500	Secobarbitale	1.000
Glutetimide	50		

#### 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. Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman: Homogeneous enzyme immunoassay: a new immunochemical technique. Biochem Biophys Res Commun 47:846-851 (1972).
4. 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



Microgenics GmbH  
Spitalhofstrasse 94  
D-94032 Passau Germany  
Tel: +49 (0) 851 886 89 0  
Fax: +49 (0) 851 886 89 10



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

#### Altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.