

Dosaggio CEDIA® per la fenciclidina (PCP)

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Per uso diagnostico in vitro

REF 100172 (Kit da 3 x 17 mL)
100173 (Kit da 65 mL)
1815784 (Kit da 495 mL)

Usò previsto

Il dosaggio CEDIA® per la fenciclidina (PCP) è uno strumento diagnostico in vitro previsto per la determinazione qualitativa e semiquantitativa della fenciclidina (PCP) nell'urina umana.

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 Qualsiasi risultato di analisi riguardante sostanze stupefacenti, soprattutto nel caso di un risultato preliminare positivo, va trattato con la considerazione clinica e la discrezione professionale opportuna.

Sommario e spiegazione del metodo

La fenciclidina (PCP) è la sostanza stupefacente più comunemente abusata.^{2,5} Usata in passato come anestetico endovenoso ad uso chirurgico nell'uomo, la fenciclidina è stata classificata come illegale negli Stati Uniti nel 1967.³ Può provocare letargia, torpore, disorientamento e agitazione; in dosi più elevate può provocare allucinazioni, psicosi, convulsioni e coma.^{2,4,5}

La PCP è lipofila e viene immagazzinata dall'organismo nel tessuto cerebrale e adiposo per periodi prolungati.^{4,6} Si stima che l'emivita della PCP sia compresa tra 7 e 50 ore.^{2,3,6,7} Il metabolismo di questa sostanza avviene principalmente nel fegato.^{6,7} La PCP viene escreta principalmente come farmaco non modificato e coniugati inattivi.^{2,3} L'escrezione completa del farmaco avviene normalmente entro 72 ore dalla somministrazione;² tuttavia, i campioni di urina possono rimanere positivi fino a 2 settimane post-somministrazione.⁷ La clearance renale della PCP aumenta considerevolmente con l'acidificazione delle urine.^{2,6,7}

Il dosaggio CEDIA per la fenciclidina è un immunodosaggio enzimatico omogeneo che si avvale della tecnologia del DNA ricombinante (brevetto USA n. 4708929).⁸ Il dosaggio è basato sull'enzima batterico β -galattosidasi, geneticamente suddiviso in due frammenti inattivi. Questi frammenti si riassociano spontaneamente per formare un enzima pienamente attivo in grado di legarsi, nel formato del dosaggio, ad un substrato, dando luogo ad una variazione cromatica misurabile spettrofotometricamente.

Nel dosaggio, la sostanza stupefacente presente nel campione compete con la sostanza coniugata al frammento inattivo di β -galattosidasi per il sito di legame anticorpale. Se la sostanza è presente nel campione, si lega agli anticorpi, lasciando i frammenti inattivi di enzima liberi di riassociarsi per formare l'enzima attivo. Se la sostanza non è presente nel campione, l'anticorpo si lega alla sostanza coniugata sul frammento enzimatico inattivo, inibendo la riassociazione dei frammenti inattivi di β -galattosidasi, e quindi la formazione dell'enzima attivo. La quantità di enzima attivo formata e la risultante variazione di assorbanza sono direttamente proporzionali alla quantità di sostanza presente nel campione.

Reagenti

- 1 Tampone di ricostituzione per EA:** contiene piperazina-N, N-bis [acido 2-etansulfonico], sali tampone, 0,44 mg/L di anticorpo monoclonale anti-PCP, stabilizzatore e conservante.
- 1a Reagente EA:** contiene 0,171 g/L di accettore enzimatico, sali tampone, detergente e conservante.
- 2 Tampone di ricostituzione per ED:** contiene piperazina-N,N-bis [acido 2-etanosulfonico], sale tampone e conservante.
- 2a Reagente ED:** contiene 12,6 μ g/L di donatore enzimatico coniugato con PCP, 1,67 g/L di rosso di clorofenolo- β -D-galattopiranoside, stabilizzante e conservante.

Ulteriori materiali: etichette con codici a barre (solo per n. di cat. 100172 e 100173). Per le istruzioni per l'uso, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione. Flaconi vuoti per analizzatore per il travaso delle soluzioni EA/ED (n. di cat. 100173). Flacone vuoto per analizzatore per il travaso della soluzione ED (solo per n. di cat. 1815784).

Ulteriori materiali necessari (venduti separatamente):

- Calibratore negativo CEDIA
- Calibratore multi-farmaco CEDIA, valore limite primario
- Calibratore multi-farmaco CEDIA, valore limite secondario
- Calibratore multi-farmaco CEDIA intermedio
- Calibratore multi-farmaco CEDIA alto
- Set di controlli multi-farmaco CEDIA

⚠ Avvertenze e precauzioni

PERICOLO: il reagente in polvere contiene $\leq 56\%$ p/p di albumina sierica bovina (BSA) e $\leq 2\%$ p/p di sodio azide. Il reagente liquido contiene $\leq 1,0\%$ di siero bovino (FBS), $\leq 0,3\%$ di sodio azide e $\leq 0,1\%$ di anticorpi farmaco-specifici (topo).

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

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

H373 - A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Non respirare polveri, nubi, vapori e spray. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi e 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 una posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione cutanea: 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, consultare il foglio delle applicazioni specifico per l'analizzatore in dotazione. Preparare le soluzioni seguenti utilizzando reagenti e tamponi freddi. Estrarre il kit dal frigorifero appena prima della preparazione delle soluzioni.

Preparare le soluzioni nel seguente ordine per ridurre al minimo la possibilità di 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 forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a si trasferisca 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 15-25°C. Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone.

Soluzione R1 di accettore enzimatico: collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 (tampone di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a si trasferisca 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 15-25°C. Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone.

N. di cat. 100173 - Analizzatore Hitachi 717, 911, 912 o 914: travasare i reagenti ricostituiti nei corrispondenti flaconi vuoti da 100 mL R1 e R2 forniti con il kit. **Hitachi 917/Sistema Modular Analytics P:** usare i reagenti ricostituiti senza travasarli. Gettare i flaconi da 100 mL vuoti.

N. di cat. 1815784 - Analizzatore Hitachi 747/Sistema Modular Analytics D: servirsi dell'imbuto fornito per trasferire una parte della soluzione R2 nel corrispondente flacone vuoto per soluzione R2 opportunamente etichettato.

NOTA 1: i componenti forniti in questo kit sono previsti per l'uso concomitante. Non mescolare tra loro componenti di lotti diversi.

NOTA 2: per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, non scambiare tra loro i tappi dei diversi flaconi. La soluzione R2 deve essere di colore giallo arancio. La comparsa di un colore rosso scuro o rosso porpora indica la contaminazione del reagente, che va quindi eliminato.

NOTA 3: prima dell'esecuzione del dosaggio, le soluzioni R1 e R2 vanno portate alla temperatura dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

NOTA 4: per garantire la stabilità del reagente EA ricostituito, non esporlo per un periodo prolungato all'azione diretta di forti sorgenti luminose.

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

Soluzione R1: 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

Soluzione R2: 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

Raccolta e trattamento del campione

Raccogliere il campione di urina in un recipiente pulito di vetro o plastica. Centrifugare i campioni ad alta torbidità prima di analizzarli. La contaminazione di un campione di urina può influire negativamente sui risultati dell'analisi; se si sospetta la contaminazione, ottenere un altro campione per l'analisi. Manipolare e gettare tutti i campioni di urina umana come se fossero potenzialmente infettivi.

Ai sensi delle direttive *The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice*, i campioni non analizzati entro 7 giorni dal loro arrivo al laboratorio vanno conservati in frigoriferi di sicurezza.⁹

Procedura di analisi

Ai fini del presente dosaggio 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.

Con i kit da 17 mL e da 65 mL vengono fornite etichette con codice a barre supplementari per la determinazione semiquantitativa. A tal fine, apporre l'etichetta corretta sopra l'etichetta già presente sul flacone.

Controllo di qualità e calibrazione¹⁰

Per il controllo della qualità, utilizzare il set di controlli multi-farmaco. Gli intervalli e i limiti dei controlli devono essere adattati alle esigenze del singolo laboratorio e alle norme del singolo Paese. I valori ottenuti devono rientrare nei limiti stabiliti.

Analisi qualitativa

Il calibratore per il valore limite selezionato, contenente 25 ng/mL di fenciclidina, viene usato come riferimento per la distinzione tra i campioni positivi e i campioni negativi. Vedere il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

Analisi semiquantitativa

Per analizzare i risultati, utilizzare il calibratore multi-farmaco (primario o secondario) insieme al calibratore negativo, intermedio e alto. Vedere il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi dei controlli parallelamente all'analisi giornaliera dei campioni dei pazienti e ad ogni calibrazione. Si consiglia di analizzare due controlli: uno del 25% al di sopra del valore limite; l'altro del 25% al di sotto del valore limite. Ricalibrare il test se i reagenti sono cambiati o se i risultati dei controlli non rientrano nei limiti stabiliti. Ciascun laboratorio deve stabilire misure correttive da adottare nel caso in cui i valori non rientrino nei limiti stabiliti. Basare la valutazione del controllo di qualità sui valori ottenuti dai controlli, che devono rientrare entro limiti specifici. Se si riscontrano tendenze marcate o deviazioni improvvise nei valori, riesaminare tutti i parametri operativi. Per ulteriore assistenza, rivolgersi al servizio di assistenza tecnica. Tutti i requisiti di controllo della qualità vanno soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

Risultati e valori attesi

Risultati qualitativi

Il calibratore multi-farmaco (valore limite primario o secondario - entrambi contenenti 25 ng/mL di PCP), viene usato come riferimento per distinguere i campioni positivi da quelli negativi. I campioni che generano un valore di risposta uguale o maggiore rispetto al valore di risposta del calibratore per il valore limite sono considerati positivi. I campioni che generano un valore di risposta inferiore rispetto a quello del calibratore per il valore limite sono considerati negativi. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

Risultati dell'analisi semiquantitativa

Il calibratore multi-farmaco (valore limite primario o secondario), usato insieme ai calibratori negativo, intermedio e alto, può essere utilizzato per stimare le concentrazioni relative di PCP. Per informazioni particolareggiate, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

Esercitare l'opportuna cautela nel riportare i risultati delle concentrazioni di sostanza stupefacente, poiché molti sono i fattori che possono influire sul risultato di un'analisi dell'urina, come ad esempio la quantità di liquidi assunta, e altri fattori di ordine biologico.

Limitazioni

- Un risultato di analisi positivo indica soltanto la presenza di fenciclidina; non indica o misura il livello di intossicazione.
- Esiste la possibilità che altre sostanze e/o fattori non elencati (come ad esempio gli errori tecnici o procedurali) possano interferire con l'analisi e dar luogo a risultati falsi.

Caratteristiche specifiche del rendimento del test

Qui sotto sono riportati i dati ottenuti utilizzando un sistema Hitachi.¹¹ I risultati ottenuti da ciascun laboratorio potrebbero discostarsi da quelli qui riportati.

Precisione

La riproducibilità è stata determinata mediante l'impiego del calibratore e dei controlli in un protocollo interno (nella serie: n = 21; tra i giorni: n = 27). Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Qualitativa (mAU/min):

Campione	Prec. nella serie			Giorno/giorno		
	Mean	SD	%CV	Mean	SD	%CV
-25% Controllo	280,2	2,2	0,8	284,0	6,0	2,1
Calibratore valore limite	326,4	2,7	0,8	326,7	7,4	2,3
+25% Controllo	364,0	4,5	1,2	375,6	8,9	2,4

Semiquantitativa (ng/ml):

Campione	Prec. nella serie			Giorno/giorno		
	Mean	SD	%CV	Mean	SD	%CV
-25% Controllo	17,7	0,4	2,4	18,0	0,8	4,5
Calibratore valore limite	26,2	0,5	2,0	25,8	0,8	3,3
+25% Controllo	35,9	1,6	4,4	35,9	1,1	3,0

Accuratezza

Duecentoquarantanove campioni clinici e 20 campioni corretti (fenciclidina corretta entro $\pm 25\%$ del valore limite di 25 ng/mL in urina negativa) sono stati analizzati con il dosaggio CEDIA PCP modificato sull'analizzatore Hitachi 717 utilizzando l'attuale PCP CEDIA come riferimento. Sono stati ottenuti i seguenti risultati.

		PCP CEDIA Modificato	
		+	-
PCP CEDIA Corrente	+	128	2*
	-	1†	138

* I campioni sono stati analizzati con il metodo GC/MS, con i seguenti risultati: un campione contiene 21.5 ng/mL di fenciclidina e un campione 24.8 ng/mL di fenciclidina.

† I campioni sono stati analizzati con il metodo GC/MS e contiene 23.1 ng/mL di fenciclidina.

Specificità

I composti progenitori e i metaboliti elencati qui di seguito hanno fornito i seguenti risultati di reattività crociata percentuale quando analizzati con il dosaggio CEDIA per la fenciclidina:

Sostanza	Concentrazione Testata (ng/mL)	Reazione Crociata (%)
Phencyclidine (PCP)	25	100
1-(1-Phenylcyclohexyl)-4-hydroxypiperidine (PCHP)	100	28,6
1-(1-Phenylcyclohexyl)-morpholine (PCM)	1.000	2,6
4-Phenyl-4-piperidinocyclohexanol (4-OH-PCP)	5.000	0,4
1-Phenylcyclohexylamine (PCA)	10.000	0,023
1-1-Phenylcyclohexyl pyrrolidine (PHP)	100	11,9
1-1-(2-Thienyl)-cyclohexyl morpholine (TCM)	1.000	2,4
1-1-(2-Thienyl)-cyclohexyl piperidine (TCP)	25	88,8
N-Ethyl-1-phenylcyclohexylamine (PCE)	1.000	2,4
N,N-Diethyl-1-phenyl-cyclohexylamine (N,N-Diethyl PCA)	100	14,3

Si sono analizzati con il dosaggio CEDIA per la fenciclidina composti non strutturalmente correlati che, alle concentrazioni qui di seguito elencate, hanno dato risultati negativi.

Sostanza	Concentrazione (ng/mL)	Sostanza	Concentrazione (ng/mL)
Acetaminofene	500.000	Enalapril	500.000
Acido acetilsalicilico	500.000	Fenobarbital	100.000
Acido salicilurico	100.000	Fluoxetina	500.000
Amfetamina	100.000	Ibuprofene	500.000
Amoxicillina	100.000	Levotiroxina	500.000
Benzoilecgonina	100.000	Metadone	100.000
Captopril	500.000	Metamfetamina	100.000
Cimetidina	500.000	Morfina	100.000
Clordiazepossido	100.000	Nifedipina	500.000
Codeina	100.000	Propossifene	100.000
Destrometorfano	1.000.000	Ranitidina	500.000
Diazepam	100.000	Secobarbital	100.000
Digossina	100.000	11-nor- Δ^9 -THC-COOH	9.330
Difenidramina	1.000.000	Verapamil	500.000

Non è stata osservata alcuna interferenza significativa dovuta all'aggiunta delle seguenti sostanze alle normali concentrazioni endogene ritrovate nelle urine con il dosaggio CEDIA per la fenciclidina (criterio per la determinazione di interferenza non significativa: recupero entro $\pm 10\%$ del valore iniziale).

Sostanza	Concentrazione Testata	Sostanza	Concentrazione Testata
Acetone	$\leq 1,0$ g/dL	Etanolo	$\leq 1,0$ g/dL
Acido ascorbico	$\leq 1,5$ g/dL	Galattosi	≤ 10 mg/dL
Acido ossalico	$\leq 0,1$ g/dL	g-globulina	$\leq 0,5$ g/dL
Albumina sierica umana	$\leq 0,5$ g/dL	Glucosio	$\leq 1,5$ g/dL
Cloruro di sodio	$\leq 6,0$ g/dL	Riboflavina	$\leq 7,5$ mg/dL
Creatinina	$\leq 0,5$ g/dL	Urea	$\leq 3,0$ g/dL
Emoglobina	$\leq 0,3$ g/dL		

Sensibilità

Per l'applicazione qualitativa, il limite di rilevamento (LOD) è stato di 1,05 ng/mL. Per l'applicazione semiquantitativa, il LOD è stato di 0,96 ng/mL.

Bibliografia

- Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986; 73:30-41.
- Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals In Man. 4th ed. Foster City, Calif: Chemical Toxicology Institute; 1995.
- Giannini AJ. Phencyclidine. In: Giannini AJ, Slaby AE, eds. Drugs of Abuse. Oradell, NJ: Medical Economics Books; 1989.
- Aniline O, Pitts FN Jr. Phencyclidine (PCP): A review and perspectives. CRC Critical Reviews in Toxicology. 1982; 10:145-177.
- Marwah J, Pitts DK. Psychopharmacology of phencyclidine. In: Clouet DH, ed. Phencyclidine: An Update. NIDA Research Monograph. 1986; 64:127-133.
- Busto U, Bendayan R, Sellers EM. Clinical pharmacokinetics of non-opiate abused drugs. Clin Pharmacokinetics. 1989; 16:1-26.
- Jerrard DA. Designer drugs - A current perspective. J Emer Med. 1990;8:733-741.
- Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32:1637-1641.
- Notice of mandatory guidelines for federal workplace drug testing program: Final Guidelines. Federal Register. 1994; 110 (June 9):11983. (le direttive rivalutate sono attese nel 2002).
- Dati sulla tracciabilità sono disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.
- 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) 851-88 68 90
Fax: +49 (0) 851-88 68 910



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

Altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.

CEDIA è un marchio depositato della Roche Diagnostics.

10007400-3-IT
2015 09

Thermo
SCIENTIFIC