

DRI® Serum Tox Assay für Barbiturate

Thermo
SCIENTIFIC

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF 0911 (25 mL, 8 mL Kit)

Anwendungsbereich

Der DRI® Serum Tox Assay für Barbiturate ist für die qualitative und semiquantitative Bestimmung von Barbituraten in Humanserum und -plasma unter Verwendung eines 1-µg/mL-Cutoff-Kalibrators vorgesehen.

Dieser Assay liefert lediglich ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Zur Bestätigung der Analyseergebnisse muss eine spezifischere chemische Alternativmethode angewendet werden. Die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) ist die für diesen Zweck bevorzugte Methode.^{1,2} Klinische Überlegungen und eine fachliche Beurteilung sollten bei allen Arzneimitteltestergebnissen berücksichtigt werden, insbesondere bei vorläufig positiven Ergebnissen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Mehrere Barbiturate wie z.B. Secobarbital (kurz wirksam) und Phenobarbital (lang wirksam) werden missbraucht. Bei Barbituratmissbrauch kann es in schweren Fällen zu Atemdepression und Koma kommen. Therapeutische Serumkonzentrationen und toxische Spiegel der verschiedenen Barbiturate unterscheiden sich voneinander. Außerdem tolerieren Patienten, die Barbiturate gewohnheitsmäßig einnehmen bzw. darauf süchtig sind im Allgemeinen weitaus höhere Dosen als Personen, bei denen dies nicht zutrifft. Da die individuelle Toleranz stark variiert und die toxischen Spiegel der verschiedenen Barbiturate verschieden hoch sind, ist vor allem der Nachweis eines Barbiturates von Bedeutung, wozu sich die Serum-Tox-Immunoassays eignen. Zur Bestimmung der Identität und genauen Konzentration des jeweiligen Barbiturates sollte eine chemische Alternativmethode herangezogen werden. Die Bestimmung des eingenommenen Barbiturats erleichtert eine wirksame Behandlung einer Barbituratintoxikation.³ Zwar kann der Nachweis von Barbituraten im Urin als Hinweis auf einen Barbituratmissbrauch angesehen werden, doch ist der Serum-Tox-Assay für Barbiturate in Notfallsituationen von Bedeutung, in denen eine Urinprobe u.U. schwer zu entnehmen ist.

Zum Nachweis missbräuchlich eingenommener Arzneimittel in biologischen Flüssigkeiten stehen viele herkömmliche Methoden wie TLC, GC, GLC und HPLC zur Verfügung. Für Screening-Anwendungen mit hohem Probendurchsatz sind Immunoassays erhältlich, die auf der Erkennung spezifischer Antigene (missbrauchte Arzneimittel) durch den entsprechenden Antikörper beruhen. Beim DRI Serum Tox Assay für Barbiturate handelt es sich um einen homogenen Immunoassay mit gebrauchsfertigen flüssigen Reagenzien.⁴ Der Assay verwendet spezifische Antikörper, die die meisten Barbiturate im Serum nachweisen können. Er basiert auf der Konkurrenz eines mit dem Enzym Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) markierten Arzneimittels mit dem Arzneimittel in der Probe um eine bestimmte Menge spezifischer Antikörper-Bindungsstellen. Wenn dieses Arzneimittel in der Probe nicht vorhanden ist, wird die mit dem Arzneimittel markierte G6PDH an die Antikörper gebunden, und die Enzymaktivität wird gehemmt. Bei Vorhandensein des Arzneimittels in der Probe besetzt dieses die Antikörperbindungsstellen, und die mit dem Arzneimittel markierte G6PDH bleibt frei und aktiv. Dadurch wird eine direkte Beziehung zwischen Arzneimittelkonzentration in der Probe und Enzymaktivität hergestellt. Die Aktivität des Enzyms wird spektrophotometrisch bei 340 nm durch Messung der Umwandlungsrate von Nikotinamidadenindinucleotid (NAD) in NADH bestimmt.

Reagenzien

Antikörper/Substrat-Reagens: Enthält polyklonale Antibarbiturat-Antikörper, Glucose-6-Phosphat (G6P) und Nikotinamidadenindinucleotid (NAD) in Tris-Puffer mit Natriumazid als Konservierungsmittel.

Enzymkonjugat-Reagens: Enthält ein mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) markiertes Barbitursäurederivat in Tris-Puffer mit Natriumazid als Konservierungsmittel.

Zusätzliche benötigte Materialien (separat verkauft):

REF

Beschreibung des Kits

0962	DRI Serum-Tox-Negativkalibrator, 10 mL
0963	DRI Serum-Tox-Kalibrator 1, 5 mL
0965	DRI Serum-Tox-Kalibrator 2, 5 mL
0967	DRI Serum-Tox-Kalibrator 3, 5 mL
0976	DRI Serum-Tox-Kalibrator 4, 5 mL

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Die Reagenzien sind gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

GEFAHR: DRI Barbiturate Serum Tox Assay enthält ≤ 0,2 % Rinderserumalbumin (BSA) und ≤ 0,5 % arzneimittelspezifische Antikörper.

H317 - Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 - Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Einatmen: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Die in den Assay-Bestandteilen verwendeten Komponenten enthalten ≤0,09% Natriumazid. Der Kontakt mit Haut und Schleimhäuten ist zu vermeiden. Bei Kontakt die betroffenen Stellen mit reichlich Wasser abspülen. Bei Verschlucken oder Kontakt mit den Augen ist sofort ein Arzt aufzusuchen. Natriumazid kann möglicherweise mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und explosive Metallazide bilden. Bei Entsorgung der Reagenzien mit viel Wasser nachspülen, um eine Anreicherung von Aziden zu vermeiden. Die Reinigung von freiliegenden Metallflächen hat mit 10 % Natriumhydroxidlösung zu erfolgen.

Die Reagenzien nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.

Zubereitung und Lagerung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig. Zubereitung der Reagenzien ist nicht nötig. Alle Assaybestandteile bleiben bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2-8 °C bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil.

Probenentnahme und -handhabung

Mit diesem Assay kann Serum oder Plasma verwendet werden. Antikoagulanzen wie Heparin, Citrate, Oxalate und EDTA stören den Assayablauf nachweislich nicht. Mit diesen Antikoagulanzen entnommene Plasmaproben können verwendet werden, frische Serumproben sind jedoch vorzuziehen. Die Proben sind gekühlt zu lagern. Pipettierte Proben sollten möglichst keine groben Verunreinigungen enthalten.

Alle Serumproben sind wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.

Durchführung des Assays

Zur Durchführung dieses homogenen Enzym-Immunoassays können Analysegeräte für die klinische Chemie verwendet werden, die in der Lage sind, die Temperatur konstant zu halten, Proben zu pipettieren, Reagenzien zu mischen, Enzymraten bei 340 nm zu messen und die Reaktionszeiten genau einzuhalten. Machen Sie sich vor der Assaydurchführung mit der Arbeitsvorschrift für das jeweilige Analysegerät vertraut, die Parameter und/oder zusätzliche Gebrauchshinweise enthält.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung

Nach guter Laborpraxis wird die Verwendung von Kontrollproben empfohlen, um eine einwandfreie Leistung zu garantieren. Die Konzentrationen der Kontrollen zur Validierung der Kalibration sollten sich nicht wesentlich von der des Cutoff-Kalibrators unterscheiden. Die Kontrollergebnisse müssen innerhalb des festgelegten Bereichs liegen. Wenn die Ergebnisse außerhalb des festgelegten Bereichs liegen, sind die Assayergebnisse ungültig. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

Qualitative Analyse

Zur qualitativen Analyse von Proben ist die Konzentration des 1-µg/mL-Kalibrators als Cutoff-Wert verwenden. Der DRI Serum-Tox-Kalibrator 2, der 1 µg/mL Secobarbital enthält, wird als Cutoff zur Unterscheidung zwischen positiven und negativen Proben verwendet.

Semiquantitative Analyse

Für die semiquantitative Analyse müssen alle Kalibratoren verwendet werden.

Ergebnisse und erwartete Werte

Qualitative Ergebnisse

Eine Probe, die eine Änderung des Extinktionswertes (ΔA) zeigt, die mindestens derjenigen des Cutoff-Kalibrators entspricht, wird als positiv angesehen. Eine Probe, die eine geringere Änderung des Extinktionswertes (ΔA) als diejenige des Cutoff-Kalibrators zeigt, wird als negativ angesehen.

Semiquantitative Ergebnisse

Die Arzneimittelkonzentration in der Probe kann durch Mitführen einer Standardkurve für alle Kalibratoren und Analyse der Proben anhand der Standardkurve grob geschätzt werden.

Mit Immunoassays, die nur ein Ergebnis in Gegenwart mehrerer Arzneimittel einer Klasse, wie z.B. Barbituraten, produzieren, kann die Konzentration der individuellen Komponenten nicht genau bestimmt werden. Bei einer qualitativen Untersuchung zeigt ein positives Ergebnis ausschließlich das Vorhandensein von Barbituraten an. Bei einer semiquantitativen Bestimmung liefert der Assay eine ungefähre kumulative Konzentration der vorhandenen Barbiturate.

Einschränkungen

- Ein positives Ergebnis dieses Assays weist lediglich das Vorhandensein von Barbituraten nach und korreliert nicht unbedingt mit dem Ausmaß der physiologischen und psychologischen Wirkungen.
- Ein positives Ergebnis dieses Assays sollte durch eine weitere, allgemein anerkannte nicht-immunologische Methode wie GC, TLC, HPLC oder GC/MS bestätigt werden.
- Dieser Test ist ausschließlich für den Gebrauch mit Humanserum oder -plasma ausgelegt.
- Andere Substanzen und/oder Faktoren (z.B. technischer oder verfahrensbedingter Art), die nicht in der Spezifitätsstudie berücksichtigt wurden, können den Test beeinflussen und zu falschen Ergebnissen führen.

Spezifische Leistungsdaten

Typische Leistungsdaten-Ergebnisse mit einem Hitachi 717 Analysiergerät werden nachstehend gezeigt.⁵ Die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse können sich von diesen Daten unterscheiden.

Präzision

Die Intratestlauf- und Intertestlaufpräzision wurde unter Verwendung der Serum-Tox-Kalibratoren untersucht, wobei folgende Ergebnisse erhalten wurden:

Qualitativ:

Kalibrator	Intratestlauf (n=20)		Intertestlauf (n = 12)	
	Mittel ± SD (mA/min)	VK (%)	Mittel ± SD (mA/min)	VK (%)
Negativ	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

Semiquantitativ:

Probe	Intratestlauf (n=20)		Intertestlauf (n = 12)	
	Mittel ± SD (µg/mL)	VK (%)	Mittel ± SD (µg/mL)	VK (%)
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

Wiederfindung (Recovery)

Eine Serie negativer Proben, der bekannte Konzentrationen von Secobarbital zugesetzt wurden, wurde mit dem Assay auf Barbiturate untersucht. Die Wiederfindung von Secobarbital betrug 91,7% bis 102,1%.

Genauigkeit

89 klinische Serumproben wurden mit dem DRI EIA-Assay und einer GC/MS-Methode für Barbiturate untersucht. Mit beiden Methoden waren 66 Proben positiv und 10 negativ. Bei 13 Proben, die mit dem DRI Assay negativ waren, wurden niedrige Barbituratspiegel, jedoch kein Secobarbital mit der GC/MS-Methode festgestellt.

Sensitivität

Sensitivität wird als niedrigste Konzentration definiert, die sich mit einem Konfidenzintervall von 95% noch von einer Probe mit 0 µg/mL unterscheiden lässt. Sie beträgt 0,07 µg/mL.

Spezifität

Mehrere Barbiturate und potenzielle Störsubstanzen wurden mit dem Assay auf Kreuzreaktionen untersucht. In Tabelle 1 sind die Konzentrationen der Barbiturate angegeben, bei welchen die Ergebnisse mit dem Assay positiv waren. In Tabelle 2 sind die Konzentrationen potenzieller Störsubstanzen mit negativem Ergebnis angegeben.

Tabelle 1: Strukturell verwandte Verbindungen, die in den angegebenen Konzentrationen ein positives Ergebnis produzierten.

Verbindung	Untersuchte Konzentration (µg/mL)
Amobarbital	10
Aprobarbital	4
Barbital	45
Butabarbital	7
Butalbital	3
Pentobarbital	12
Phenobarbital	10
Secobarbital	1
Talbutal	2

Tabelle 2: Strukturell nicht verwandte Verbindungen, die ein negatives Ergebnis in den angegebenen Konzentrationen produzierten.

Verbindung	Untersuchte Konzentration (µg/mL)
Acetylsalicylsäure	1000
Amitriptylin	100
d-Amphetamin	1.000
Diazepam	100
Glutethimid	80
p-Hydroxyphenytoin	100
Koffein	100
Meperidin	1.000
Methadon	1.000
Methaqualon	100
Morphin	1.000
Oxazepam	100
Paracetamol	1.000
Phencyclidin	1.000
Phenytoin	100
Primidon	100
Propoxyphen	1.000

Literatur

- Urine Testing for Drug of Abuse. National Institute on Drug Abuse (NIDA) Research Monograph 73, (1986).
- Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program. National Institute on Drug Abuse. Federal Register Vol. 53, No 69, pp 11970 (1988).
- Hadden J. et al: Acute barbiturate intoxication. JAMA 209: 893-900 (1969). Daten liegen bei Microgenics Corporation vor, teil von Thermo Fisher Scientific.
- Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman: Homogeneous enzyme immunoassay: a new immunochemical technique. Biochem Biophys Res Commun 47:846-851 (1972).
- Daten liegen bei Microgenics Corporation vor, teil von Thermo Fisher Scientific.

Glossar:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundendienst und technischer
Support für die USA:
1-800-232-3342



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



Aktualisierte Packungsbeilagen finden Sie unter:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Andere Länder:

Wenden Sie sich bitte an die zuständige Vertretung von Thermo Fisher Scientific.