

Ensaio DRI® de toxicidade no soro para detecção de barbitúricos

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Para utilização em diagnóstico in vitro

Rx Only

REF 0911 (kit de 25 ml, 8 ml)

Utilização prevista

O Ensaio DRI® de toxicidade no soro para detecção de barbitúricos destina-se à determinação qualitativa e semiquantitativa de barbitúricos no soro ou plasma humanos, utilizando um calibrador limite 1 µg/ml.

Este ensaio oferece apenas um resultado de teste analítico preliminar. Deve ser utilizado um método químico alternativo mais específico para obter um resultado analítico confirmado. O método de confirmação preferido é a cromatografia gasosa/espectrometria de massa (GC/MS).^{1,2} Deve aplicar-se consideração clínica e discernimento profissional a qualquer resultado de testes de consumo de drogas, particularmente quando são utilizados resultados preliminares positivos.

Resumo e explicação do teste

Diversos barbitúricos, como o secobarbital (de ação curta) e o fenobarbital (de ação longa), estão sujeitos a consumo abusivo. O consumo abusivo de barbitúricos pode levar a depressão respiratória ou coma em casos graves. A concentração terapêutica no soro e o nível de toxicidade são diferentes para cada barbitúrico. Além disso, os doentes que consumiram barbitúricos por hábito, particularmente os viciados nesses agentes, podem tolerar doses mais elevadas que as pessoas que não são consumidores habituais. Devido às grandes variações na tolerância individual e à variação nos níveis de toxicidade associados a cada barbitúrico, os imunoenaios de toxicidade no soro são úteis em primeira análise para estabelecer a presença do agente. Deve ser utilizado um método químico alternativo para determinar a identidade e concentração exata do barbitúrico específico. A determinação do tipo de barbitúrico ingerido facilita um curso de tratamento eficaz para a intoxicação por barbitúricos.³ Embora a detecção de barbitúricos na urina possa ser utilizada como indicador de consumo de barbitúricos, o Ensaio de toxicidade no soro para detecção de barbitúricos é essencial em situações de emergência em que pode ser difícil obter uma amostra de urina.

Estão disponíveis muitas técnicas convencionais, como TLC, GC, GLC e HPLC, para testar o consumo abusivo de fármacos em fluidos biológicos. Estão disponíveis imunoenaios baseados no reconhecimento específico de antígenos (fármacos com consumo abusivo) pelo anticorpo correspondente estão disponíveis aplicações de rastreio em volumes elevados. O Ensaio DRI de toxicidade no soro para detecção de barbitúricos é um imunoenensaio homogêneo de enzima que utiliza reagentes líquidos prontos a utilizar.⁴ O ensaio utiliza anticorpos específicos que podem detectar a maior parte dos barbitúricos no soro. Baseia-se na concorrência por uma quantidade fixa de locais específicos de ligação de anticorpos entre um fármaco marcado com enzima glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) e o fármaco na amostra. Na ausência de fármaco na amostra, o fármaco marcado com G6PDH é ligado pelo anticorpo e a atividade da enzima é inibida. Na presença de fármaco na amostra, o fármaco ocupa os locais de ligação de anticorpos e deixa o fármaco marcado com G6PDH livre e ativo. Este fenómeno cria uma ligação direta entre a concentração do fármaco na amostra e a atividade da enzima. A atividade da enzima é determinada por espectrofotometria a 340 nm medindo a respetiva capacidade de converter NAD em NADH.

Reagentes

Reagente de substrato/anticorpo: Contém anticorpos antibarbitúricos policlonais, glucose-6-fosfato (G6P) e nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Reagente conjugado de enzima: Contém derivado de ácido barbitúrico marcado com glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Material adicional necessário (vendido separadamente):

| REF | Descrição do kit |
|------|--|
| 0962 | DRI Serum Tox Negative Calibrator, 10 mL |
| 0963 | DRI Serum Tox Calibrator 1, 5 mL |
| 0965 | DRI Serum Tox Calibrator 2, 5 mL |
| 0967 | DRI Serum Tox Calibrator 3, 5 mL |
| 0976 | DRI Serum Tox Calibrator 4, 5 mL |

⚠️ Precauções e advertências

Os reagentes são prejudiciais se forem ingeridos.

PERIGO: O Ensaio DRI de toxicidade no soro para detecção de barbitúricos contém ≤ 0,2% de soro-albumina bovina (BSA) e ≤ 0,5% de anticorpo específico contra o fármaco.

H317 - Pode provocar uma reação alérgica cutânea.

H334 - Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia, de asma ou dificuldades respiratórias.

Evitar respirar névoas ou vapores. A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. Usar luvas de proteção/proteção ocular/proteção facial. Em caso de ventilação inadequada, usar proteção respiratória. Se entrar em contacto com a pele: lavar com sabão e água abundantes. EM CASO DE INALAÇÃO: em caso de dificuldade respiratória, retirar a vítima para uma zona ao ar livre e mantê-la em repouso numa posição que não dificulte a respiração. Em caso de irritação cutânea ou prurido: consultar um médico. Em caso de sintomas respiratórios: contactar um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Lavar a roupa contaminada antes de a voltar a usar. Eliminar o conteúdo/recipiente em local conforme os regulamentos locais/regionais/nacionais/internacionais.

Os reagentes utilizados nos componentes do ensaio contêm ≤0,09 % de azida de sódio. Evite o contacto com a pele e membranas mucosas. Lave as áreas afetadas com água abundante. Em caso de exposição ocular ou ingestão, procure cuidados médicos imediatamente. A azida de sódio pode reagir com canalizações de cobre ou chumbo e formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Quando eliminar esses reagentes, faça sempre descargas com muita água para evitar a acumulação de azidas. Limpe as superfícies metálicas expostas com hidróxido de sódio a 10 %.

Não utilize os reagentes depois do fim dos prazos de validade.

Preparação e armazenamento dos reagentes

Os reagentes estão prontos a utilizar. Não é necessária qualquer preparação dos reagentes. Todos os componentes do ensaio, quando devidamente armazenados a 2 – 8 °C, são estáveis até à data de validade indicada no rótulo.

Recolha e manuseamento de amostras

Podem ser utilizados soro ou plasma com o ensaio. Os anticoagulantes como heparina, citratos, oxalatos e EDTA demonstraram não interferir com o ensaio. As amostras de plasma recolhidas com estes anticoagulantes podem ser utilizadas com o ensaio, embora seja preferível uma amostra de soro nova. Armazene a amostra refrigerada. Deve fazer-se um esforço para manter as amostras pipetadas livres de excesso de resíduos.

Trate todas as amostras de soro como se fossem potencialmente infecciosas.

Procedimento do ensaio

Os analisadores químicos clínicos capazes de manter uma temperatura constante, de pipetar amostras, de misturar reagentes, de medir taxas de enzimas a 340 nm e de cronometrar com precisão a reação podem ser utilizados para executar este imunoenensaio homogêneo de enzima. Antes de executar o ensaio, consulte a folha de protocolo específica do analisador, que contém parâmetros e/ou instruções de utilização adicionais.

Controlo de qualidade e calibração

As boas práticas laboratoriais sugerem a utilização de amostras de controlo para assegurar o adequado desempenho do ensaio. Utilize os controlos próximos do calibrador limite para validar a calibração. Os resultados do controlo devem situar-se no intervalo estabelecido. Se os resultados ficarem fora do intervalo estabelecido, os resultados do ensaio são inválidos. Todos os requisitos de controlo de qualidade deverão ser realizados em conformidade com as regulamentações locais, estatais e/ou federais ou requisitos de acreditação.

Análise qualitativa

Para a análise qualitativa de amostras, utilize o calibrador 1 µg/ml como nível de limite. O DRI Serum Tox Calibrator 2, que contém 1 µg/ml de secobarbital, é utilizado como limite para distinguir as amostras "positivas" das "negativas".

Análise semiquantitativa

Para a análise semiquantitativa, utilize todos os calibradores.

Resultados e valores esperados

Resultados qualitativos

Uma amostra que apresente uma alteração no valor de absorção (ΔA) igual ou superior ao calibrador limite é considerada positiva. Uma amostra que apresente uma alteração no valor de absorção (ΔA) inferior ao calibrador limite é considerada negativa.

Resultados semiquantitativos

É possível obter uma estimativa aproximada da concentração do fármaco nas amostras executando uma curva padrão com todos os calibradores e medindo as amostras a partir da curva padrão.

Os imunoenaios que produzam apenas um resultado único na presença de uma classe de fármacos, como os barbitúricos, não conseguem medir com precisão a concentração de cada componente individual. Para uma aplicação qualitativa, um resultado positivo indica apenas a presença de barbitúricos. Para uma aplicação semiquantitativa, o ensaio fornece uma concentração cumulativa de barbitúricos aproximada.

Limites

1. Um resultado positivo deste ensaio indica apenas a presença de barbitúricos, sem apresentar necessariamente uma correlação com a extensão de efeitos fisiológicos e psicológicos.
2. Um resultado positivo neste ensaio deve ser confirmado por outro método não-imunológico geralmente aceite, como GC, TLC, HPLC ou GC/MS.
3. O teste foi concebido para utilização apenas com soro ou plasma humanos.
4. Outras substâncias e/ou fatores (por ex. técnicos ou procedimentais) para além dos investigados no estudo de especificidade podem interferir com o teste e levar a resultados falsos.

Características específicas do desempenho

Os resultados de desempenho característicos obtidos num analisador Hitachi 717 são apresentados em baixo.⁵ Os resultados obtidos no seu laboratório podem ser diferentes destes dados.

Precisão

As precisões na mesma determinação e entre determinações foram determinadas com os calibradores de toxicidade no soro, com os seguintes resultados:

Qualitativos:

| Calibrador | Na mesma determinação (n=20) | | Entre determinações (n=12) | |
|---------------|------------------------------|------|----------------------------|------|
| | Média ± DP (mA/min) | % CV | Média ± DP (mA/min) | % CV |
| Cal. 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 |

Semiquantitativos:

| Amostra | Na mesma determinação (n=20) | | Entre determinações (n=12) | |
|---------|------------------------------|------|----------------------------|------|
| | Média ± DP (µg/ml) | % CV | Média ± DP (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 |

Recuperação

Foram adicionadas concentrações conhecidas de secobarbital a diversas amostras negativas, que foram submetidas ao teste para deteção de barbitúricos. A recuperação de secobarbital foi de 91,7 % a 102,1 %.

Exatidão

Oitenta e nove amostras clínicas de soro foram submetidas ao ensaio EIA DRI e a um método GC/ms para barbitúricos. Sessenta e seis amostras foram positivas e dez negativas para ambos os métodos. Treze amostras foram negativas pelo ensaio DRI e demonstraram ter níveis baixos de barbitúricos para além do secobarbital pelo método GC/MS.

Sensibilidade

A sensibilidade, definida como a concentração mais baixa que se pode diferenciar de 0 µg/ml com confiança de 95 %, é de 0,07 µg/ml.

Especificidade

Foi testada a reatividade cruzada de diversos barbitúricos e substâncias com interferência potencial no ensaio. A tabela 1 resume as concentrações a que determinados barbitúricos foram positivos segundo o ensaio. A tabela 2 enumera as concentrações de substâncias com interferência potencial que produziram um resultado negativo.

Tabela 1: Compostos estruturalmente relacionados que produziram um resultado positivo nas concentrações indicadas.

| Composto | Concentração testada (µg/ml) |
|---------------|------------------------------|
| Amobarbital | 10 |
| Aprobarbital | 4 |
| Barbital | 45 |
| Butabarbital | 7 |
| Butalbital | 3 |
| Pentobarbital | 12 |
| Fenobarbital | 10 |
| Secobarbital | 1 |
| Talbutal | 2 |

Tabela 2: Compostos estruturalmente não relacionados que produziram um resultado negativo nas concentrações indicadas.

| Composto | Concentração testada (µg/ml) |
|------------------------|------------------------------|
| Acetaminofeno | 1.000 |
| Ácido acetilsalicílico | 1.000 |
| Amitriptilina | 100 |
| d-Anfetamina | 1.000 |
| Cafeína | 100 |
| Diazepam | 100 |
| Glutetimida | 80 |
| p-Hidroxifenitoína | 100 |
| Meperidina | 1.000 |
| Metadona | 1.000 |
| Metaqualona | 100 |
| Morfina | 1.000 |
| Oxazepam | 100 |
| Fenciclidina | 1.000 |
| Fenitoína | 100 |
| Primidona | 100 |
| Propoxifeno | 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). Dados no ficheiro na Microgenics Corporation, parte da 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. Dados no ficheiro na Microgenics Corporation, parte da Thermo Fisher Scientific.

Glossário:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Assistência técnica
e ao cliente nos EUA:
1-800-232-3342



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



Poderá obter atualizações do folheto em:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Outros países:

Contacte o representante local da Thermo Fisher Scientific.