

DRI® Serum Tox Assay für Benzodiazepine

Thermo
SCIENTIFIC

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF 0920 (25 mL, 8 mL Kit)

Anwendungsbereich

Der DRI® Serum Tox Assay für Benzodiazepine ist zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung von Benzodiazepinen in Humanserum und -plasma mit einem Cutoff von 50 ng/ml vorgesehen.

Der Assay liefert lediglich ein vorläufiges analytisches Ergebnis. 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

Benzodiazepine wirken sedierend und schlafördernd und werden missbraucht. Zu den Benzodiazepinen zählt eine ganze Reihe strukturell ähnlicher Wirkstoffe wie Alprazolam, Chlordiazepoxid, Diazepam, Lorazepam, Oxazepam und Triazolam. Der therapeutische Serumspiegel und die toxische Konzentration sind von einem Benzodiazepin zum anderen unterschiedlich. Außerdem vertragen Patienten, die Benzodiazepine gewohnheitsmäßig gebraucht haben, und zwar insbesondere Patienten, die von diesen Wirkstoffen abhängig sind, weitaus größere Mengen als Personen, die Benzodiazepine nicht regelmäßig gebrauchen. Da die individuelle Toleranz stark variiert und die toxischen Spiegel der verschiedenen Benzodiazepine verschieden hoch sind, ist vor allem der Nachweis eines Benzodiazepins von Bedeutung, wozu sich die Serum-Tox-Immunassays eignen. Zur Bestimmung der Identität und genauen Konzentration des jeweiligen Benzodiazepins sollte eine chemische Alternativmethode herangezogen werden. Die Bestimmung des eingenommenen Benzodiazepins erleichtert eine wirksame Behandlung einer Benzodiazepinintoxikation. Zwar kann der Nachweis von Benzodiazepinen im Urin als Hinweis auf einen Benzodiazepinmissbrauch angesehen werden, doch ist der DRI Serum Tox Assay für Benzodiazepine 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 jetzt Immunassays erhältlich, die auf der spezifischen Erkennung des missbräuchlich angewandten Arzneimittels durch den zugehörigen Antikörper beruhen. Beim DRI Serum Tox Assay für Benzodiazepine handelt es sich um einen homogenen Immunassay² mit gebrauchsfertigen flüssigen Reagenzien. Der Assay verwendet spezifische Antikörper, die die meisten Benzodiazepine und deren im Metabolite 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 nicht in der Probe 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 der Arzneimittelkonzentration in der Probe und der Enzymaktivität hergestellt. Die Aktivität des Enzyms G6PDH wird spektrophotometrisch bei 340 nm durch Messung der Umwandlungsrate von Nikotinamidadenindinukleotid (NAD) nach NADH bestimmt.

Reagenzien

Antikörper-/Substratreagens: Enthält polyklonale Antibenodiazepin-Antikörper (Ziege), Glucose-6-Phosphat (G6P) sowie Nikotinamidadenindinukleotid (NAD) in Tris-Puffer mit Natriumazid als Konservierungsstoff.

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

Zusätzlich benötigte Materialien (separat verkauft):

REF	Beschreibung des Kits
0962	Serum-Tox-Negativkalibrator, 10 mL
0963	Serum-Tox-Kalibrator 1, 5 mL
0965	Serum-Tox-Kalibrator 2, 5 mL
0967	Serum-Tox-Kalibrator 3, 5 mL
0976	Serum-Tox-Kalibrator 4, 5 mL

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Gesundheitsschädlich beim Verschlucken.

GEFAHR: DRI Benzodiazepine Serum Tox Assay enthält $\leq 0,2\%$ Rinderserumalbumin (BSA) und $\leq 0,5\%$ 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: Giftnformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Die im Assay verwendeten Komponenten enthalten $\leq 0,09\%$ 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.

Reagenzien nicht über das Verfallsdatum hinaus verwenden.

Zubereitung und Lagerung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig und erfordern keinerlei Vorbereitung. Alle Assay-Bestandteile 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. Antikoagulantien wie Heparin, Citrate, Oxalate und EDTA stören den Assayablauf nachweislich nicht. Mit diesen Antikoagulantien 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 Assays können Analysegeräte für die klinische Chemie verwendet werden, die in der Lage sind, eine 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 50-ng/mL-Kalibrators als Cutoff-Wert zu verwenden. Der DRI Serum-Tox-Kalibrator 2, der 50 ng/mL Diazepam 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 Immunassays, die nur ein Ergebnis in Gegenwart mehrerer Arzneimittel einer Klasse, wie z.B. Benzodiazepinen, produzieren, kann die Konzentration der individuellen Komponenten nicht bestimmt werden. Bei einer qualitativen Untersuchung zeigt ein positives Ergebnis ausschließlich das Vorhandensein von Benzodiazepinen an. Bei einer semiquantitativen Bestimmung liefert der Assay eine ungefähre kumulative Konzentration der vorhandenen Benzodiazepine.

Einschränkungen

- Ein positives Ergebnis dieses Assays weist lediglich das Vorliegen von Benzodiazepinen 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 Spezifikationsstudie berücksichtigt wurden, können den Test beeinflussen und zu falschen Ergebnissen führen.

Spezifische Leistungsdaten

Typische Leistungsdaten-Ergebnisse mit einem Hitachi 717 Analysiergerät werden nachstehend gezeigt.⁴ Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse von diesen Daten.

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	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

Semiquantitativ:

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

Wiederfindung (Recovery)

Eine Serie negativer Serumproben wurde mit bekannten Konzentrationen Diazepam angereichert und mit dem Assay auf Benzodiazepine untersucht. Die Wiederfindung für Diazepam lag zwischen 89,3% und 98%.

Genauigkeit

109 klinische Proben wurden mit dem DRI Serum Tox Assay für Benzodiazepine und einer HPLC-Methode auf Benzodiazepine untersucht. Mit beiden Methoden waren 85 Proben positiv und 12 Proben negativ. 12 Proben waren mit der HPLC positiv und mit dem DRI Assay negativ. Die Benzodiazepinkonzentration in diesen 12 Proben betrug ≥ 10 ng/mL und ≤ 50 ng/mL mit dem HPLC.

Sensitivität

Sensitivität wird als die niedrigste Konzentration definiert, die sich mit einem Konfidenzintervall von 95% noch von einer Probe mit 0 ng/mL unterscheiden lässt. Sie beträgt 10 ng/mL.

Spezifität

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

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

Verbindung	(ng/mL)	Verbindung	(ng/mL)
Alprazolam	50	Lorazepam	2.000
Bromazepam	4.000	Medazepam	150
Chlordiazepoxid	20.000	Nitrazepam	300
Clonazepam	1.000	Norchlordiazepoxid	20.000
Clorazepat	150	Nordiazepam	100
Delorazepam	2.000	Oxazepam	1.000
Desalkylflurazepam	50	Oxazolam	100.000
Diazepam	50	Prazepam	50
Flunitrazepam	50	Temazepam	100
Flurazepam	250	Triazolam	150
Halazepam	125		

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

Verbindung	(µg/mL)	Verbindung	(µg/mL)
Acetylsalicylsäure	1.000	Methsuximid	50
Amitriptylin	100	Morphin	200
d-Amphetamin	1.000	Paracetamol	1.000
Carbamazepin	100	Phencyclidin	1.000
Dextromethorphan	1.000	Phenobarbital	500
Glutethimid	50	Phenytoin	100
Imipramin	100	Primidon	100
Koffein	100	Propoxyphen	1.000
Meperidin	100	Secobarbital	1.000
Methadon	1.000	Valproinsäure	500
Methaqualon	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).
- 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.