

Análisis DRI® Serum Tox para benzodiazepinas

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Para uso diagnóstico in vitro

Rx Only

REF 0920 (kit de 25 mL, 8 mL)

Indicaciones

El análisis DRI® Serum Tox para benzodiazepinas está indicado para la determinación cualitativa y semicuantitativa de benzodiazepinas en suero o plasma humanos con un cut-off de 50 ng/mL.

El análisis sólo ofrece un resultado analítico preliminar. Para obtener un resultado analítico confirmado debe emplearse otro método químico más específico. El método de confirmación recomendado es la técnica combinada de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS).^{1,2} Al valorar resultados analíticos referentes a drogas, y sobre todo cuando se trata de resultados positivos preliminares, deben aplicarse consideraciones clínicas y el criterio profesional.

Resumen y explicación del análisis

Las benzodiazepinas son fármacos hipnótico-sedantes que pueden crear dependencia. Las benzodiazepinas incluyen una gran variedad de fármacos similares estructuralmente, tales como alprazolam, clordiazepóxido, diazepam, lorazepam, oxazepam y triazolam. Las concentraciones séricas terapéuticas y los niveles tóxicos de cada benzodiazepina son diferentes. Además, los consumidores habituales de benzodiazepinas, sobre todo los adictos a ellas, pueden tolerar dosis mucho mayores que las personas que no las consumen habitualmente. Debido a la gran variación de las tolerancias individuales y de los niveles tóxicos asociados a cada benzodiazepina, los inmunoanálisis toxicológicos de suero son útiles principalmente para establecer la presencia del fármaco. Para determinar la identidad y la concentración exacta de la benzodiazepina específica es preciso un método químico alternativo. Al poder determinar el tipo de benzodiazepina ingerida, será más fácil decidir el tratamiento más eficaz para la intoxicación por benzodiazepinas. Aunque la detección de las benzodiazepinas en la orina puede utilizarse como indicador de consumo de benzodiazepinas, el análisis DRI Serum Tox para benzodiazepinas es muy importante en situaciones de emergencia en las que sea difícil obtener una muestra de orina.

Hay muchas técnicas convencionales, como la TLC, la GC, la GLC y la HPLC, que pueden emplearse para determinar la presencia de drogas en líquidos biológicos. Los inmunoanálisis, basados en el reconocimiento específico de drogas mediante el anticuerpo correspondiente, pueden utilizarse para situaciones en las que haya que analizar un gran número de muestras. El análisis DRI Serum Tox para benzodiazepinas es un enzimoimmunoanálisis homogéneo³ que utiliza reactivos líquidos listos para su uso. El análisis utiliza anticuerpos específicos que detectan la mayoría de las benzodiazepinas y sus metabolitos en suero. Se basa en la competición entre un fármaco marcado con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) y el fármaco de la muestra por un número fijo de lugares de unión de anticuerpos específicos. Si la muestra no contiene el fármaco, el anticuerpo específico se une al fármaco marcado con G6PDH, lo que inhibe la actividad de la enzima. Si la muestra contiene el fármaco, el fármaco ocupa los lugares de unión del anticuerpo y deja libre y activo el fármaco marcado con G6PDH. Este fenómeno crea una relación directa entre la concentración del fármaco en la muestra y la actividad de la enzima. La actividad de la enzima G6PDH se determina mediante espectrofotometría a 340 nm, midiendo su capacidad para convertir el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) en NADH.

Reactivos

Reactivo de sustrato/anticuerpo: Contiene anticuerpos de cabra antibenzodiazepina policlonales, glucosa-6-fosfato (G6P) y dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) en tampón Tris con azida sódica como conservante.

Reactivo de conjugado enzimático: Contiene derivado de benzodiazepina marcado con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) en trometamol (tampón Tris) con azida sódica como conservante.

Material adicional requerido (se vende por separado):

REF	Descripción del kit
0962	Calibrador negativo Serum Tox, 10 mL
0963	Calibrador Serum Tox 1, 5 mL
0965	Calibrador Serum Tox 2, 5 mL
0967	Calibrador Serum Tox 3, 5 mL
0976	Calibrador Serum Tox 4, 5 mL

Precauciones y advertencias

Es nocivo si se ingiere.

PELIGRO: El análisis DRI Serum Tox de benzodiazepinas contiene $\leq 0,2\%$ de albúmina sérica bovina (BSA) y $\leq 0,5\%$ de anticuerpo específico contra el fármaco.

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H334 - Puede provocar síntomas de alergia o asma, o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

Evitar respirar los vapores o la neblina. Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. Llevar guantes de protección/ protección para los ojos/máscara de protección. En caso de ventilación insuficiente, llevar equipo de protección respiratoria. En caso de contacto con la piel: Lavar la zona con abundante agua y jabón. EN CASO DE INHALACIÓN: Si la víctima respira con dificultad, transpórtela al exterior y manténgala en reposo en una posición en la que respire con comodidad. En caso de irritación o erupción de la piel: Buscar asesoramiento o asistencia médica inmediata. En caso de experimentar síntomas de dificultad respiratoria: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un lugar que esté en conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Los reactivos utilizados en los componentes del análisis contienen $\leq 0,09\%$ azida sódica. Evite el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto, lave las áreas afectadas con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o de ingestión, consulte inmediatamente a un médico. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas que pueden ser explosivas. Al desechar dichos reactivos, aclare siempre con agua abundante para evitar la acumulación de azida. Lave las superficies metálicas expuestas con una solución de hidróxido de sodio al 10%.

No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.

Preparación y conservación de los reactivos

Los reactivos están listos para su uso. No es necesario preparar reactivos. Si se almacenan adecuadamente entre 2 y 8 °C, todos los componentes del análisis son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

Recogida y manipulación de muestras

Para el análisis puede emplearse suero o plasma. Se ha observado que los anticoagulantes como la heparina, los citratos, los oxalatos y el ácido edético (EDTA) no interfieren en el análisis. Las muestras de plasma obtenidas con estos anticoagulantes pueden utilizarse con el análisis, aunque se recomienda emplear muestras de suero fresco. Almacene las muestras refrigeradas. Debe hacerse todo lo posible para mantener las muestras pipeteadas libres de residuos macroscópicos.

Manipule todas las muestras de suero como si fueran potencialmente infecciosas.

Procedimiento del análisis

Para efectuar este análisis, pueden utilizarse analizadores químicos clínicos capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir velocidades enzimáticas a 340 nm y cronometrar la reacción de manera precisa. Antes de realizar el análisis, consulte los parámetros y las instrucciones de uso adicionales en el protocolo específico del analizador empleado.

Control de calidad y calibración

Las prácticas correctas de laboratorio aconsejan el uso de muestras de control para asegurar que el análisis funcione debidamente. Utilice controles cercanos al calibrador de cut-off para validar la calibración. Los resultados del control deben estar dentro del rango establecido. Si los resultados están fuera del rango establecido, los resultados del análisis no son válidos. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse de acuerdo con las normas o los requisitos de acreditación locales, estatales o federales.

Análisis cualitativo

Para el análisis cualitativo de las muestras, utilice el calibrador de 50 ng/mL como concentración de cut-off. El calibrador DRI Serum Tox 2, que contiene 50 ng/mL de diazepam, se utiliza como cut-off para distinguir las muestras positivas de las negativas.

Análisis semicuantitativo

Para los análisis semicuantitativos, utilice todos los calibradores.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

Se consideran positivas las muestras que presenten un cambio en el valor de absorbancia (ΔA) que sea igual o mayor que el obtenido con el calibrador de cut-off. Se consideran negativas las muestras que presenten un cambio en el valor de absorbancia (ΔA) que sea menor que el obtenido con el calibrador de cut-off.

Resultados semicuantitativos

Para obtener una estimación aproximada de la concentración del fármaco en las muestras, es posible trazar una curva estándar con todos los calibradores e interpolar en esa curva los resultados obtenidos con las muestras.

Los inmunoanálisis que producen un solo resultado en presencia de una clase de fármacos, como las benzodiazepinas, no pueden cuantificar con precisión la concentración de cada uno de los componentes. En una aplicación cualitativa, un resultado positivo indica solamente la presencia de benzodiazepinas. En una aplicación semicuantitativa, el análisis ofrece una concentración aproximada y acumulativa de benzodiazepinas.

Limitaciones

- Un resultado positivo en este análisis sólo indica la presencia de benzodiazepinas, y no se relaciona necesariamente con la magnitud de los efectos fisiológicos y psicológicos.
- Los resultados positivos obtenidos en este análisis deben confirmarse mediante otro método no inmunológico generalmente aceptado, tal como la GC, la TLC (cromatografía en capa fina) la HPLC o la GC/MS.
- La prueba está diseñada para utilizarse solamente con suero o plasma humanos.
- Es posible que otras sustancias u otros factores (p. ej., técnicos o de procedimiento) aparte de los investigados en el estudio de la especificidad interfieran en la prueba y produzcan resultados falsos.

Características específicas de rendimiento

A continuación se muestran los datos típicos de rendimiento obtenidos en un analizador Hitachi 717.⁴ Los resultados obtenidos en su laboratorio pueden ser distintos a estos datos.

Precisión

Se determinó la precisión intraserial y entre series con los calibradores Serum Tox, y se obtuvieron los siguientes resultados:

Cualitativos:

Calibrador	Intraserial (n=20)		Entre series (n=12)	
	Media ± DE (mA/min)	%CV	Media ± DE (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

Semiquantitativos:

Muestra	Intraserial (n=20)		Entre series (n=12)	
	Media ± DE (mA/min)	%CV	Media ± DE (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

Recuperación

Se añadieron concentraciones conocidas de diazepam a una serie de muestras de suero negativas, que se analizaron posteriormente con la prueba de detección de benzodiazepinas. La recuperación de diazepam fue del 89,3 al 98%.

Exactitud

Se analizaron ciento nueve muestras clínicas para detectar la presencia de benzodiazepinas con el análisis DRI Serum Tox para benzodiazepinas y con una técnica de HPLC. Con ambos métodos, ochenta y cinco muestras fueron positivas y doce, negativas, mientras que doce muestras fueron positivas con la HPLC y negativas con el análisis de DRI. La concentración de benzodiazepinas en estas doce muestras discrepantes era ≥ 10 ng/mL, pero ≤ 50 ng/mL según la HPLC.

Sensibilidad

La sensibilidad, definida como la concentración más baja que puede diferenciarse de 0 ng/mL con una confianza del 95%, es de 10 ng/mL.

Especificidad

Se comprobó la reactividad cruzada del análisis con varias benzodiazepinas y algunas sustancias que pueden producir interferencias. En la tabla 1 se resumen las concentraciones a las que el análisis puede detectar las benzodiazepinas. En la tabla 2 se enumeran las concentraciones de sustancias potencialmente interferentes que produjeron un resultado negativo.

Tabla 1. Compuestos relacionados estructuralmente que produjeron un resultado positivo a las concentraciones indicadas.

Compuesto	ng/mL	Compuesto	ng/mL
Alprazolam	50	Lorazepam	2.000
Bromazepam	4.000	Medazepam	150
Clonazepam	1.000	Nitrazepam	300
Clorazepato	150	Norclordiazepóxido	20.000
Clordiazepóxido	20.000	Nordiazepam	100
Delorazepam	2.000	Oxazepam	1.000
Desalquilflurazepam	50	Oxazolam	100.000
Diazepam	50	Prazepam	50
Flunitrazepam	50	Temazepam	100
Flurazepam	250	Triazolam	150
Halazepam	125		

Tabla 2. Compuestos no relacionados estructuralmente que produjeron un resultado negativo a las concentraciones señaladas.

Compuesto	µg/mL	Compuesto	µg/mL
Ácido acetilsalicílico	1.000	Meperidina	100
Amitriptilina	100	Metacualona	1.000
d-anfetamina	1.000	Metadona	1.000
Cafeína	100	Metsuximida	50
Carbamazepina	100	Morfina	200
Dextrometorfano	1.000	Paracetamol	1.000
Fenciclidina	1.000	Primidona	100
Fenitoína	100	Propoxifeno	1.000
Fenobarbital	500	Secobarbital	1.000
Glutetimida	50	Ácido valproico	500
Imipramina	100		

Bibliografía

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. Datos archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.

Glosario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 EE.UU.
Servicio al cliente y de
asistencia técnica en EE.UU:
1-800-232-3342



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



Para actualizaciones de folletos, visite:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:

Póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.