

Ensaio DRI® de toxicidade no soro para deteção de benzodiazepina

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Para utilização em diagnóstico in vitro

Rx Only

REF 0920 (kit de 25 ml, 8 ml)

Utilização prevista

O Ensaio DRI® de toxicidade no soro para deteção de benzodiazepina destina-se à determinação qualitativa e semiquantitativa de benzodiazepina no soro ou plasma humanos com uma interrupção de 50 ng/ml.

O 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

As benzodiazepinas são fármacos sedativo-hipnóticos que estão sujeitos a consumo abusivo. As benzodiazepinas incluem uma variedade de fármacos estruturalmente semelhantes, como o alprazolam, o clordiazepóxido, o diazepam, o lorazepam, o oxazepam e o triazolam. As concentrações terapêuticas no soro e os níveis de toxicidade são diferentes para cada benzodiazepina. Além disso, os doentes que consumiram benzodiazepinas 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 benzodiazepina, os imunoensaios 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 a concentração exata da benzodiazepina específica. A determinação do tipo de benzodiazepina ingerida facilita um curso de tratamento eficaz para a intoxicação por benzodiazepina. Embora a deteção de benzodiazepinas na urina possa ser utilizada como indicador de consumo de benzodiazepinas, o Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de benzodiazepinas 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. Imunoensaios baseados no reconhecimento específico de fármacos com consumo abusivo pelo anticorpo correspondente ficaram disponíveis para aplicações de rastreio em volumes elevados. O Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de benzodiazepina é um imunoensaio homogéneo de enzima³ que utiliza reagentes líquidos prontos a utilizar. O ensaio utiliza anticorpos específicos que podem detetar a maior parte das benzodiazepinas e respetivos metabolitos no soro. Baseia-se na concorrência por uma quantidade fixa de locais específicos de ligação de anticorpos entre um fármaco marcado com enzimas, 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 específico 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 G6PDH é determinada por espectrofotometria a 340 nm medindo a respetiva capacidade de converter nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) em NADH.

Reagentes

Reagente de substrato/anticorpo: Contém anticorpos de cabra antibenzodiazepinas 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 benzodiazepina marcado com glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Materiais adicionais necessários (vendidos separadamente):

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

⚠️ Precauções e advertências

Prejudicial se for ingerido.

PERIGO: O Ensaio DRI de toxicidade no soro 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 no 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 do prazo 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 entre 2 e 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 ensaio. 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 50 ng/ml como nível de limite. O DRI Serum Tox Calibrator 2, que contém 50 ng/ml de diazepam, 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 imunoensaios que produzam apenas um resultado único na presença de uma classe de fármacos, como as benzodiazepinas, não conseguem medir com precisão a concentração de cada componente individual. Para uma aplicação qualitativa, um resultado positivo indica apenas a presença de benzodiazepinas. Para uma aplicação semiquantitativa, o ensaio fornece uma concentração cumulativa de benzodiazepinas aproximada.

Limites

- Um resultado positivo deste ensaio indica apenas a presença de benzodiazepinas, sem apresentar necessariamente uma correlação com a extensão de efeitos fisiológicos e psicológicos.
- Um resultado positivo neste ensaio deve ser confirmado por outro método não-imunológico geralmente aceite, como GC, TLC, HPLC ou GC/MS.
- O teste foi concebido para utilização apenas com soro ou plasma humanos.
- 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.⁴ 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/mín)	% CV	Média ± DP (mA/mín)	% 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:

Amostra	Na mesma determinação (n=20)		Entre determinações (n=12)	
	Média ± DP (mA/mín)	% CV	Média ± DP (mA/mín)	% 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

Recuperação

Foram adicionadas concentrações conhecidas de diazepam a diversas amostras de soro negativas, que foram submetidas ao teste para deteção de benzodiazepinas. A recuperação de diazepam foi de 89,3% a 98%.

Exatidão

Cento e nove amostras clínicas foram submetidas ao teste para deteção de benzodiazepinas pelo Ensaio DRI de toxicidade no soro para deteção de benzodiazepinas e por uma técnica HPLC. Oitenta e cinco amostras foram positivas e doze negativas por ambos os métodos, enquanto doze amostras foram positivas pelo método HPLC e negativas pelo ensaio DRI. A concentração de benzodiazepinas nestas doze amostras discrepantes foi ≥ 10 ng/ml, mas ≤ 50 ng/ml pelo HPLC.

Sensibilidade

A sensibilidade, definida como a concentração mais baixa que se pode diferenciar de 0 ng/ml com confiança de 95%, é de 10 ng/ml.

Especificidade

Foi testada a reatividade cruzada de diversas benzodiazepinas e substâncias com interferência potencial no ensaio. A tabela 1 resume as concentrações a que determinadas benzodiazepinas foram positivas segundo o ensaio. A tabela 2 enumera a concentração de substâncias com interferência potencial que produziram um resultado negativo.

Tabela 1.

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

Composto	ng/ml	Composto	ng/ml
Alprazolam	50	Lorazepam	2.000
Bromazepam	4.000	Medazepam	150
Clordiazepóxido	20.000	Nitrazepam	300
Clonazepam	1.000	Norclordiazepóxido	20.000
Clorazepato	150	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		

Tabela 2.

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

Composto	µg/ml	Composto	µg/ml
Acetaminofeno	1.000	Metaqualona	1.000
Ácido acetilsalicílico	1.000	Metsuximida	50
Amitriptilina	100	Morfina	200
d-Anfetamina	1.000	Fenciclidina	1.000
Cafeína	100	Fenobarbital	500
Carbamazepina	100	Fenitoína	100
Dextrometorfano	1.000	Primidona	100
Glutetimida	50	Propoxifeno	1.000
Imipramina	100	Secobarbital	1.000
Meperidina	100	Ácido valproico	500
Metadona	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. Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman: Homogeneous enzyme immunoassay: a new immunochemical technique. Biochem Biophys Res Commun 47:846-851 (1972).
4. 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.