

Saggio per il rilevamento dell'Ecstasy DRI®

IVD Per uso diagnostico in vitro

Rx Only

REF 10014681 (3 x 18 mL)
100075 (100 mL Kit)
100076 (500 mL Kit)

Uso previsto

Il saggio per l'ecstasy DRI® è un saggio immunoenzimatico in fase omogenea indicato per la determinazione qualitativa o semi-quantitativa dell'ecstasy nell'urina umana. Il saggio prevede una procedura analitica di screening semplice e veloce per il rilevamento dell'ecstasy nell'urina con livello di cutoff di 500 ng/mL.

Il saggio garantisce unicamente un risultato analitico preliminare. Utilizzare un metodo chimico alternativo più specifico a conferma del risultato analitico. La gas-cromatografia/spettrometria di massa (GC/MS) costituisce il metodo di conferma d'elezione.^{1,2} Avvalersi di considerazioni cliniche e del giudizio professionale per interpretare i risultati di qualsiasi test sulle droghe d'abuso soprattutto quando si utilizzano risultati positivi preliminari.

Riepilogo e presentazione del test

I farmaci a base di ecstasy costituiscono un gruppo di composti amfetaminosimili a base di metilenediossi-amfetamina ottenuti per semplice modificazione chimica dell'anello benzenico, comprendenti 3, 4-metilenediossi-amfetamina (MDA), 3, 4 metilenediossi-metil-amfetamina (MDMA) e 3, 4-metilenediossi-etil-amfetamina (MDEA). Sono stimolanti del sistema nervoso centrale (SNC) diffusamente utilizzati per il loro effetto psicotropo e inclusi nel gruppo 1 del Drug Enforcement Administration negli Stati Uniti d'America (banditi dall'uso medico e caratterizzati da elevato potenziale d'abuso). A bassa dose, sia la MDMA che la MDA producono euforia, un'accresciuta consapevolezza del proprio essere ed un accresciuto senso di fiducia. A dosi più elevate, sono ritenute allucinogene. Gli effetti tossici sono simili a quelli di altri stimolanti del SNC e comprendono ansia, depressione, tachicardia, pressione arteriosa elevata, aritmie cardiache, dilatazione della pupilla e disturbi del sonno.

Il tempo successivo all'assunzione in cui si verificano gli effetti positivi dipende da numerosi fattori, compresi la frequenza d'uso e la quantità della droga, la frequenza metabolica, la velocità di escrezione, l'emivita della droga e l'età, il peso, l'attività e la dieta del consumatore. Nell'organismo, la MDMA metabolizza in MDA mediante N-demetilazione. L'escrezione nell'urina avviene nella misura del 65% della dose come precursore e del 7% come MDA entro 3 giorni. Le concentrazioni di MDMA nell'urina dopo aver assunto per os 1,5 mg/kg possono superare i 17 mg/L. Altri metaboliti urinari comprendono mono- e diidrossi-derivati della MDMA e della MDA, risultanti dalla divisione del ponte metilenico ed eliminati come coniugati. Il metabolismo umano della MDA non è stato oggetto di studio. Le concentrazioni fino a 160 mg/L registrate nell'urina nei casi di decesso sono indice dell'escrezione di porzioni sostanziali del farmaco inaltrato.³

Il test di rilevamento dell'Ecstasy DRI utilizza reagenti liquidi pronti per l'uso e calibratori.⁴ Il saggio utilizza specifici anticorpi in grado di rilevare l'ecstasy contenuta nell'urina con minima cross-reattività a numerosi composti amfetaminici. Il saggio si basa sulla concorrenza tra la sostanza stupefacente marcata con un enzima glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) e quella libera contenuta nel campione di urina per un quantitativo determinato di siti di legame specifici dell'anticorpo. Se il campione non contiene droga libera, l'anticorpo specifico si lega alla droga marcata con la G6PD determinando una riduzione dell'attività enzimatica. Questo fenomeno crea una relazione diretta tra la concentrazione della droga nell'urina e l'attività enzimatica. L'attività della G6PD viene determinata mediante spettrofotometria a 340 nm misurando la sua abilità di convertire il NAD (nicotinammide adenina dinucleotide) in NADH.

Reagenti

Reagente anticorpo/substrato (R1):

Contiene l'anticorpo monoclonale anti-MDMA, glucosio-6-fosfato (G6P), e il nicotinammide adenina dinucleotide (NAD) in tampone Tris con azoturo di sodio come conservante.

Reagente enzima-coniugato (R2):

Contiene MDMA marcata con glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) in tampone Tris con azoturo di sodio come conservante.

Materiali aggiuntivi occorrenti (venduti separatamente):

REF	Descrizione del kit
1664	Calibratore negativo DRI, 10 mL
1388	Calibratore negativo DRI, 25 mL
100082	Calibratore Ecstasy 250 ng/mL DRI /10 mL
100081	Calibratore Ecstasy 500 ng/mL DRI /10 mL
100080	Calibratore Ecstasy 750 ng/mL DRI /10 mL
100079	Calibratore Ecstasy 1000 ng/mL DRI /10 mL
100202	Set di controllo MGC Select DAU, 3 x 5 mL

⚠️ Precauzioni e avvertenze

PERICOLO: l'immunodosaggio DRI Ecstasy contiene ≤0,2% di albumina sierica bovina (BSA) e ≤0,5% di anticorpi specifici per il composto.

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Evitare di respirare la polvere o i vapori. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi e proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in una posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione cutanea: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

- Questo test è unicamente per uso diagnostico in vitro. I reagenti sono dannosi se ingeriti.
- I reagenti utilizzati nei componenti del saggio contengono ≤0,09% di azoturo di sodio. Evitare il contatto con la pelle e le membrane mucose. Lavare le aree colpite con acqua abbondante. Richiedere immediatamente l'aiuto di un medico se il prodotto è stato posto a contatto con gli occhi o se è stato ingerito. L'azoturo di sodio può reagire con il piombo o il rame delle condutture e formare azoturi metallici potenzialmente esplosivi. Nello smaltire i reagenti aver cura di sciacquare sempre con acqua abbondante onde prevenirne l'accumulo. Pulire le superfici metalliche esposte con idrossido di sodio al 10%.
- Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.

Preparazione e conservazione dei reagenti

I reagenti sono pronti per l'uso. Non richiedono alcuna preparazione. Tutti i componenti del saggio refrigerati sono stabili fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Raccolta e preparazione del campione

Prelevare i campioni di urina in contenitori di plastica o vetro. Prestare attenzione a salvaguardare l'integrità chimica del campione di urina dal momento del prelievo fino all'esecuzione dell'analisi.

I campioni mantenuti a temperatura ambiente che non vengono inizialmente analizzati entro 7 giorni⁶ dall'arrivo in laboratorio devono essere riposti in un'unità di refrigerazione sicura a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C fino a un massimo di 7 giorni.⁶ La conservazione dei campioni di urina per periodi più lunghi prima o dopo l'analisi deve essere effettuata a una temperatura di -20 °C per 21 settimane.^{5,7}

I laboratori che seguono le linee guida obbligatorie SAMHSA devono fare riferimento ai requisiti SAMHSA "Short-Term Refrigerated Storage" (Conservazione refrigerata a breve termine) e "Long-Term Storage" (Conservazione a lungo termine).⁸

Per proteggere l'integrità del campione, non indurre la formazione di schiuma ed evitare congelamenti e scongelamenti ripetuti. Cercare di ottenere campioni pipettati senza detriti di grandi dimensioni. Si raccomanda di centrifugare i campioni notevolmente torbidi prima dell'analisi. I campioni congelati devono essere scongelati e miscelati prima dell'analisi. L'adulterazione del campione di urina può portare a risultati errati. Se si sospetta un'adulterazione del campione, prelevarne un altro e inoltrare entrambi i campioni al laboratorio per l'analisi.

Maneggiare tutti i campioni di urina come materiale potenzialmente infettivo.

Procedimento

Per l'esecuzione del saggio si possono usare analizzatori chimici clinici in grado di mantenere una temperatura costante, di pipettare i campioni, miscelare i reagenti e misurare i tassi enzimatici a 340 nm e i tempi di reazione con accuratezza.

Prima di eseguire il saggio, consultare i parametri chimici riportati nelle istruzioni di ciascun analizzatore per l'applicazione desiderata.

Controllo della qualità e calibrazione⁹

La buona pratica di laboratorio raccomanda di utilizzare campioni di controllo per assicurare la corretta esecuzione del saggio. Utilizzare controlli prossimi al calibratore di cutoff per convalidare la calibrazione. I risultati del controllo devono ricadere entro intervalli prestabiliti. Se ricadono esternamente agli intervalli predefiniti, il saggio deve essere considerato non valido. Tutti i requisiti di controllo di qualità devono essere eseguiti in conformità con i regolamenti locali, regionali e/o statali o con i requisiti di accreditamento vigenti.

Analisi qualitativa

Per l'analisi qualitativa dei campioni, utilizzare il calibratore da 500 ng/mL come livello di cutoff.

Analisi semi-quantitativa

Per l'analisi semi-quantitativa dei campioni, utilizzare tutti i calibratori. Tutti i requisiti di controllo di qualità devono essere eseguiti in conformità con i regolamenti locali, regionali e/o statali o con i requisiti di accreditamento vigenti.

Risultati e valori attesi

Risultati qualitativi

Il calibratore da 500 ng/mL è utilizzato come riferimento di cutoff per distinguere i campioni "positivi" da quelli "negativi". Un campione in cui si rileva una variazione del valore di assorbanza (ΔA) uguale o superiore al valore ottenuto con il calibratore di cutoff è considerato positivo. Un campione che rilevi una variazione del valore di assorbanza (ΔA) inferiore al valore ottenuto con il calibratore di cutoff è considerato negativo.

Risultati semi-quantitativi

Una stima approssimativa della concentrazione del farmaco nei campioni può essere ottenuta eseguendo una curva standard con tutti i calibratori e quantificando i campioni esterni alla curva standard. Fare riferimento alla documentazione protocollare specifica dell'analizzatore.

Limitazioni

1. Se il saggio risulta positivo è indice unicamente della presenza di Ecstasy e non è necessariamente correlato all'entità degli effetti fisiologici e psicologici.
2. Un risultato positivo del saggio deve essere confermato da un altro metodo non immunologico quale una gas-cromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).
3. Il test è indicato per l'uso unicamente con urina umana.
4. Vi è inoltre la possibilità che altre sostanze e/o fattori (ad es. tecnici, procedurali o relativi ad altri composti Ecstasy-simili) non considerati dallo studio di specificità possano interferire con il test causando dei falsi risultati.

Caratteristiche prestazionali tipiche

I risultati prestazionali tipici ottenuti sull'analizzatore Hitachi 717 sono riportati in basso.⁹ I risultati conseguiti nel proprio laboratorio potrebbero differire.

Precisione

Il controllo negativo, il controllo positivo e il calibratore di cutoff sono stati saggiati con un protocollo NCCLS modificato. Il test è stato eseguito in modalità frequenza (rate) saggiando tutti i tre livelli in repliche di 6, due volte al giorno per 10 giorni.

Hitachi 717 qualitativo (mA/min)

Utilizzando il calibratore di cutoff a 120 ng/mL	Precisione intrasequenza		Precisione totale	
	Media \pm SD (mA/min)	% CV	Media \pm SD (mA/min)	% CV
Controllo basso (375 ng/mL)	254 \pm 2,3	0,9	254 \pm 7,0	2,8
Cutoff (500 ng/mL)	332 \pm 3,4	1,0	332 \pm 8,9	2,7
Controllo alto (625 ng/mL)	395 \pm 3,8	1,0	395 \pm 7,2	1,8

Hitachi 717 semi-quantitativo (ng/mL)

Utilizzando il calibratore di cutoff a 120 ng/mL	Precisione intrasequenza		Precisione totale	
	Media \pm SD (ng/mL)	% CV	Media \pm SD (ng/mL)	% CV
Controllo basso (375 ng/mL)	359 \pm 5,7	1,6	359 \pm 9,1	2,5
Cutoff (500 ng/mL)	500 \pm 6,9	1,4	500 \pm 10,7	2,1
Controllo alto (625 ng/mL)	630 \pm 9,5	1,5	630 \pm 13,7	2,2

Sensibilità

La sensibilità, definita come la concentrazione più bassa che può essere differenziata dal calibratore di urina negativa con una confidenza del 95%, è di 22 ng/mL.

Accuratezza

Novantadue (92) campioni clinici positivi all'Ecstasy e diciotto (18) campioni clinici negativi all'Ecstasy sono stati saggiati con il saggio per l'Ecstasy DRI e confrontati con GC/MS. Tra i due metodi è stato ottenuto un accordo del 100%. Altri quaranta (40) campioni risultati negativi ad uno screening precedente sono risultati negativi anche al saggio per l'Ecstasy DRI. Il confronto tra il saggio per l'Ecstasy DRI e la GC/MS è presentato nella sezione seguente.

		Qualitativo		Semi-quantitativo	
		GC/MS cutoff 500 ng/mL		GC/MS cutoff 500 ng/mL	
		+	-	+	-
Ecstasy DRI cutoff 500 ng/mL	+	92	0	92	0
	-	0	18	0	18

Dei centodieci (110) campioni clinici totali confermati da GC/MS, dieci (10) ricadevano entro 375 ng/mL e 500 ng/mL (-25% della concentrazione di cut-off) e dieci (10) ricadevano tra 500 ng/mL e 625 ng/mL (+25% della concentrazione di cut-off). L'accordo per entrambi i campioni positivi e negativi era del 100%.

Specificità

La specificità del saggio è stata valutata saggiando composti strutturalmente correlati e strutturalmente non correlati ma diffusamente utilizzati.

Le concentrazioni dei composti che producono un risultato positivo approssimativamente equivalente al cutoff di 500 ng/mL per la MDMA sono elencate in basso. È riportata anche la percentuale di cross-reattività.

Composti strutturalmente affini:

Composto	Concentrazione (ng/mL)	% di cross-reattività
MDA	750	67
MDEA	460	109
MBDB	1.700	29
BDB	900	56
Parametossiamfetamina (PMA)	4.500	11
Para-metossimetamfetamina (PMMA)	1.500	33

Le concentrazioni dei composti che producono un risultato negativo inferiore al cutoff di 500 ng/mL per la MDMA sono elencate in basso. È riportata anche la percentuale di cross-reattività.

Composti strutturalmente affini:

Composto	Concentrazione (ng/mL)	% di cross-reattività
d-anfetamina	600.000	0,1
l-anfetamina	90.000	0,6
d,l-anfetamina	180.000	0,3
L-efedrina	800.000	0,1
d-metanfetamina	600.000	0,1
l-metanfetamina	62.000	0,8
d, l-metanfetamina	100.000	0,5
Fentermina	220.000	0,2
d,l-fenilpropanolamina	800.000	0,1
d-pseudoefedrina	1.000.000	0,1

$$\% \text{ di cross-reattività} = \frac{\text{conc. di cutoff}}{\text{conc. osservata}} \times 100$$

Composti strutturalmente non-affini che producono un risultato negativo al cutoff di 500 ng/mL:

Composto	Concentrazione (ng/mL)
Acido acetilsalicilico	1.000.000
Acido salicilurico	1.000.000
Amoxicillina	1.000.000
Benzoilecgonina	1.000.000
Caffeina	100.000
Captopril	1.000.000
Cimetidina	500.000
Clordiazepossido	250.000
Codeina	1.000.000
Diazepam	1.000.000
Digossina	100.000
Enalapril	1.000.000
Fenciclidina (PCP)	1.000.000
Fenobarbital	1.000.000
Fluoxetina	500.000
Ibuprofene	1.000.000
Levotiroxina	100.000
Metadone	1.000.000
Morfina	1.000.000
Nifedipina	50.000
Paracetamolo	1.000.000
Propossifene	1.000.000
Ranitidina	250.000
THC	10.000
Tolmetina	500.000
Verapamil	1.000.000

Interferenza

Sono state studiate con il saggio per l'Ecstasy le interferenze di alcune sostanze endogene ed esogene. Nessuna interferenza è risultata osservabile con l'aggiunta dei composti alle concentrazioni elencate nella tabella seguente. È stato inoltre studiato per le possibili interferenze il pH del campione di urina.

Composto	Concentrazione
Acetone	1.000 mg/dL
Acido ascorbico	1.500 mg/dL
Acido ossalico	100 mg/dL
Albumina sierica umana	500 mg/dL
Cloruro di sodio	6 g/dL
Creatinina	500 mg/dL
Emoglobina	300 mg/dL
Etanolo	1 %
Galattosio	10 mg/dL
Glucosio	3 g/dL
Intervallo del pH	3-11
Riboflavina	7,5 mg/dL
Urea	6 g/dL

Bibliografia

1. "Urine Testing for Drugs of Abuse". National Institute on Drug Abuse (NIDA) Research Monograph 73 (1986).
2. "Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs". National Institute on Drug Abuse. Federal Register Vol. 53, No 69, pp11970 (1988).
3. Baselt RC and Cravey RH. "Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man". Chemical Toxicology Institute, 4th ed, Foster City, Calif., (1995).
4. Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman. "Homogeneous Enzyme Immunoassay: A New Immunochemical Technique". Biochem. Biophys. Res. Commun. 47, 846, (1972).
5. Clauwaert KM, Van Bocxlaer FJ, De Leenheer AP. Stability study of the designer drugs "MDA, MDMA and MDEA" in water, serum, whole blood, and urine under various storage temperatures. *Forensic Science International* 124 (2001) 36-42.
6. Cao Z, Kaleta E, Wang P. Simultaneous Quantitation of 78 Drugs and Metabolites in Urine with a Dilute-And-/shoo LC-MS-MS Assay. *Journal of Analytical Toxicology* 2015.;39:355-346.
7. C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (April 2007).
8. *Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines; Federal Register*, Substance Abuse and Mental Health Administration (SAMHSA), (1994) 110 (June 9):11983.
9. Data on file at Microgenics, a part of Thermo Fisher Scientific.

Glossario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Servizio di assistenza tecnica
e alla clientela negli USA:
1-800-232-3342



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



Per gli aggiornamenti del foglio illustrativo, visitare:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Negli altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.

10006188-10-IT
2017 11

Thermo
SCIENTIFIC