

IVD Para utilização em diagnóstico in vitro

Rx Only

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

Utilização prevista

O Imunoensaio DRI® da Enzima de Ecstasy é um imunoensaio de enzima homogênea que se destina à determinação qualitativa ou semiquantitativa de ecstasy na urina humana. O ensaio disponibiliza um procedimento de análise analítico simples e rápido para a detecção de ecstasy a um nível limite de 500 ng/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

As drogas de ecstasy representam um grupo de compostos análogos de metilenedioxianfetamina com substituição do anel, incluindo 3,4-metilenedioxianfetamina (MDA), 3,4-metilenedioximetanfetamina (MDMA) e 3,4-metilenedioxietilamfetamina (MDEA). São estimulantes do sistema nervoso central utilizados popularmente pelos seus efeitos psicotrópicos e estão listados pela U.S. Drug Enforcement Administration (Agência Antidroga dos EUA) como Schedule I (nenhuma aplicação médica aceite com grande potencial de abuso). Em doses baixas, tanto o MDMA como o MDA produzem euforia, um aumento da auto-consciência e uma sensação aumentada de confiança. Em doses mais altas, acredita-se que sejam alucinogênicos. Os efeitos tóxicos são semelhantes a outros estimulantes do sistema nervoso central e incluem ansiedade, depressão, taquicardia, hipertensão arterial, arritmias cardíacas, dilatação da pupila e distúrbios do sono.

O período de tempo após o qual a utilização da droga pode resultar num resultado positivo depende de vários fatores, incluindo: a frequência e a quantidade da droga, a taxa metabólica, a taxa de excreção, a vida média da droga e a idade, o peso, a atividade e a dieta do consumidor de droga. No corpo, sabe-se que a MDMA metaboliza com a MDA por N-desmetilação. A excreção de urina elimina 65 % da dose como um medicamento precursor e 7 % como MDA no prazo de 3 dias. As concentrações urinárias de MDMA após uma dose oral de 1,5 mg/kg podem exceder os 17 mg/L. Outros metabólitos urinários incluem os mono e dihidroxi derivados de MDMA e MDA, resultantes da fissão da ponte de metileno, que são eliminados como conjugados. O metabolismo humano do MDA ainda não foi estudado. Registam-se concentrações de urina nos casos mortais de até 160 mg/L e são indicativos da excreção de porções substanciais de drogas não alteradas.³

O ensaio DRI de Ecstasy utiliza calibradores e reagentes líquidos e prontos a utilizar.⁴ O ensaio utiliza anticorpos específicos, que podem detetar o ecstasy na urina com uma reatividade cruzada mínima até vários compostos de anfetamina. O ensaio 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 ausência de fármaco na amostra de urina. Na ausência de fármaco na amostra, o fármaco marcado com G6PDH é ligado pelo anticorpo específico causando uma diminuição na atividade da enzima. Este fenómeno cria uma ligação direta entre a concentração do fármaco na urina 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 (R1):

Contém anticorpos antiMDMA monoclonais, glucose-6-fosfato (G6P) e nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Reagente conjugado de enzima (R2):

Contém MDMA marcada com glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) em tampão Tris com azida de sódio como conservante.

Materiais necessários adicionais (mas não incluídos):

REF	Descrição do kit
1664	DRI Negative Calibrator, 10 mL
1388	DRI Negative Calibrator, 25 mL
100082	DRI Ecstasy 250 ng/mL Calibrator, 10 mL
100081	DRI Ecstasy 500 ng/mL Calibrator, 10 mL
100080	DRI Ecstasy 750 ng/mL Calibrator, 10 mL
100079	DRI Ecstasy 1.000 ng/mL Calibrator, 10 mL
100202	MGC Select DAU Control Set, 3 x 5 mL

⚠️ Precauções e advertências

PERIGO: O Imunoensaio DRI de Ecstasy 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.

1. Este teste destina-se apenas a utilização em diagnóstico in vitro. Os reagentes são prejudiciais se forem ingeridos.
2. 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 %.
3. 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 refrigerados, são estáveis até à data de validade indicada no rótulo.

Preparação e manuseamento de amostras

Recolha as amostras de urina em recipientes de plástico ou de vidro. Deverá tomar as medidas adequadas para preservar a integridade química da amostra de urina desde a sua recolha até ao ensaio.

As amostras mantidas à temperatura ambiente que não sejam submetidas ao teste inicial no espaço de 7 dias⁵ após a chegada ao laboratório podem ser colocadas numa unidade de refrigeração protegida a 2-8 °C durante 7 dias.⁶ Para um armazenamento mais prolongado antes da análise ou para a manutenção da amostra após a análise, as amostras de urina podem ser conservadas a -20 °C durante 21 semanas.^{5,7}

Os laboratórios que seguem as orientações obrigatórias da SAMHSA devem consultar os requisitos de "Armazenamento refrigerado a curto prazo" e "Armazenamento a longo prazo" da SAMHSA.⁸

Para proteger a integridade da amostra, não induza espuma e evite ciclos repetidos de congelamento/descongelamento. Deve fazer-se um esforço para manter as amostras pipetadas livres de excesso de resíduos. Recomenda-se a centrifugação de amostras muito turvas antes da análise. As amostras congeladas devem ser descongeladas e misturadas antes da análise. A adulteração da amostra de urina pode produzir resultados erróneos. Se suspeitar de adulteração, obtenha outra amostra e envie ambas as amostras para o laboratório para teste.

Trate todas as amostras de urina como potencialmente infecciosas.

Procedimento do ensaio

Os analisadores 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.

Consulte as instruções de aplicação específicas de cada analisador para detetar parâmetros de química antes de executar o ensaio.

Controlo de qualidade e calibração⁹

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 500 ng/mL como nível de limite.

Análise semiquantitativa

Para a análise semiquantitativa das amostras, utilize todos os calibradores. Todos os requisitos de controlo de qualidade deverão ser realizados em conformidade com as regulamentações locais, estatais e/ou federais ou requisitos de acreditação.

Resultados e valores esperados

Resultados qualitativos

O calibrador de 500 ng/mL é utilizado como referência limite para distinguir as amostras "positivas" das "negativas". Uma amostra que apresente uma alteração no valor de absorção (ΔA) igual ou superior ao obtido com o calibrador limite é considerada positiva. Uma amostra que apresente uma alteração no valor de absorção (ΔA) inferior ao obtido com o 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 quantitativas a partir da curva padrão. Consulte as fichas de parâmetro de instrumento para obter mais informações sobre os protocolos específicos ao analisador.

Limites

- Um resultado positivo deste ensaio indica apenas a presença de Ecstasy 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, como GC/MS.
- O teste foi concebido para utilização apenas com urina humana.
- É possível com outras substâncias e/ou fatores para além dos investigados no estudo de especificidade possam interferir com o teste e levar a resultados falsos, como, por exemplo, questões técnicas, processuais e outros compostos semelhantes a Ecstasy.

Características típicas do desempenho

Os resultados de desempenho obtidos no analisador Hitachi 717 são apresentados em baixo.⁹ Os resultados obtidos no seu laboratório podem ser diferentes destes dados.

Precisão

O controlo negativo, o controlo positivo e o calibrador de limite foram testados utilizando um protocolo modificado de NCCLS. O teste foi executado no modo de taxa, testando todos os três níveis em réplicas de 6, duas vezes por dia durante 10 dias.

Qualitativo Hitachi 717 (mA/min)

Com 120 ng/mL calibrador limite	Precisão na mesma determinação		Precisão total	
	Média ± SD (mA/min)	% CV	Média ± SD (mA/min)	% CV
Baixo controlo (375 ng/mL)	254 ± 2,3	0,9	254 ± 7,0	2,8
Limite (500 ng/mL)	332 ± 3,4	1,0	332 ± 8,9	2,7
Controlo elevado (625 ng/mL)	395 ± 3,8	1,0	395 ± 7,2	1,8

Semi-quantitativo Hitachi 717 (ng/mL)

Com 120 ng/mL calibrador limite	Precisão na mesma determinação		Precisão total	
	Média ± SD (ng/mL)	% CV	Média ± SD (ng/mL)	% CV
Baixo controlo (375 ng/mL)	359 ± 5,7	1,6	359 ± 9,1	2,5
Limite (500 ng/mL)	500 ± 6,9	1,4	500 ± 10,7	2,1
Controlo elevado (625 ng/mL)	630 ± 9,5	1,5	630 ± 13,7	2,2

Sensibilidade

A sensibilidade, definida como a concentração mais baixa que se pode diferenciar do calibrador de urina negativa com confiança de 95%, é de 22 ng/mL.

Exatidão

Testaram-se um total de noventa e duas amostras clínicas positivas de Ecstasy e dezoito amostras clínicas negativas no ensaio DRI de Ecstasy e comparadas com GC/MS. Foi obtida uma concordância de 100% entre os dois métodos. Quarenta amostras adicionais anteriormente analisadas apresentam um resultado negativo no ensaio DRI de Ecstasy. O desempenho do Ensaio DRI de Ecstasy em comparação com GC/MS é apresentado abaixo.

Qualitativo		Semiquantitativo	
GC/MS 500 ng/mL Limite		GC/MS 500 ng/mL Limite	
+ -		+ -	
DRI de Ecstasy Limite 500 ng/mL	+ 92 0 - 0 18	DRI de Ecstasy Limite 500 ng/mL	+ 92 0 - 0 18

Das mil e cem amostras clínicas confirmadas pelo GC/MS, dez estavam entre 375 ng/mL e 500 ng/mL (-25% da concentração limite) e dez amostras entre 500 ng/mL e 625 ng/mL (+25% da concentração limite). A concordância da amostra positiva e negativa foi de 100%.

Especificidade

A especificidade do ensaio foi avaliada através do teste de compostos associados estruturalmente e não associados estruturalmente, mas drogas frequentemente utilizadas.

As concentrações de compostos que produzem um resultado positivo a um limiar de MDMA aproximadamente equivalente a 500 ng/mL são listados abaixo. Também se apresenta as reatividades cruzadas percentuais.

Compostos associados estruturalmente:

Composto	Concentração (ng/mL)	% Reatividade cruzada
MDA	750	67
MDEA	460	109
MBDB	1.700	29
BDB	900	56
para-metoxiamfetamina (PMA)	4.500	11
para-metoximetfetamina (PMMA)	1.500	33

As concentrações de compostos que produzem um resultado negativo a um limiar de MDMA inferior a 500 ng/mL são listados abaixo. Também se apresenta as reatividades cruzadas percentuais.

Compostos associados estruturalmente:

Composto	Concentração (ng/mL)	% Reatividade cruzada
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

$$\% \text{ reatividade cruzada} = \frac{\text{limite conc.}}{\text{conc. observado}} \times 100$$

Compostos estruturalmente não relacionados que produzem um resultado negativo a um limite de 500 ng/mL:

Composto	Concentração (ng/mL)
Acetaminofeno	1.000.000
Ácido acetilsalicílico	1.000.000
Amoxicilina	1.000.000
Benzoilecgonina	1.000.000
Cafeína	100.000
Captopril	1.000.000
Clordiazepóxido	250.000
Cimetidina	500.000
Codeína	1.000.000
Diazepam	1.000.000
Digoxina	100.000
Enalapril	1.000.000
Fluoxetina	500.000
Ibuprofeno	1.000.000
Levotiroxina	100.000
Metadona	1.000.000
Morfina	1.000.000
Nifedipina	50.000
Fenciclidina	1.000.000
Fenobarbital	1.000.000
Propoxifeno	1.000.000
Ranitidina	250.000
Ácido salicílico	1.000.000
THC	10.000
Tolmetina	500.000
Verapamil	1.000.000

Interferência

No ensaio de Ecstasy, foi estudada a interferência das substâncias endógenas e exógenas. Não foi detetada interferência nas amostras de urina com as concentrações de compostos máximas listadas abaixo. Também se estudou a possível interferência do pH da amostra de urina.

Composto	Concentração
Acetona	1.000 mg/dL
Ácido ascórbico	1.500 mg/dL
Creatinina	500 mg/dL
Etanol	1 %
Galactose	10 mg/dL
Glucose	3 g/dL
Hemoglobina	300 mg/dL
Soro-albumina humano	500 mg/dL
Ácido oxálico	100 mg/dL
Riboflavina	7,5 mg/dL
Cloreto de sódio	6 g/dL
Ureia	6 g/dL
intervalo de pH	3-11

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, MDMD 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.

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.

10006188-10-PT
2017 11

Thermo
SCIENTIFIC