

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF	10017365 (3 x 17 mL Indiko Kit)
	100084 (3 x 17 mL Kit)
	100093 (65 mL Kit)
	1661213 (495 mL Kit)

Anwendungsbereich

Bei dem CEDIA™ Barbiturat Assay ist ein diagnostischer in-vitro Test zur qualitativen und semi-quantitativen Bestimmung von Barbituraten in Humanurin.

Der Assay bietet ausschließlich ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Zur Bestätigung der analytischen Ergebnisse muss eine spezifischere chemische Methode angewendet werden. Die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) ist die für diesen Zweck bevorzugte Methode.¹ Klinische Überlegungen und eine fachliche Beurteilung sollten bei allen Drogen- Testergebnissen berücksichtigt werden, insbesondere bei vorläufig positiven Ergebnissen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Die Barbiturate gehören zu einer großen Gruppe von Arzneimitteln mit ZNS-depressiver Wirkung, bekannt als Sedativa und Hypnotika.^{2,4} Gewöhnlich werden Barbiturate bei Drogenmissbrauch als Tabletten genommen, aber Drogenabhängige haben manchmal diese Präparate gelöst und sie injiziert.^{2,3,5}

Die Barbiturate werden abhängig vom Grad der Fettlöslichkeit in kurz-, mittel- und langwirkende Präparate eingeteilt.^{2,6} Ihre Halbwertszeit schwankt zwischen 20-120 Stunden.^{4,6} Sie werden unterschiedlich in der Leber metabolisiert und teilweise als aktive und inaktive Metaboliten, teilweise unverändert, im Urin ausgeschieden.^{4,6} Abhängig vom jeweiligen Präparat kann der Urin-Test bis zu 30 Stunden, zum Teil sogar bis zu mehreren Wochen nach der Arzneiapplikation positiv ausfallen.⁴

Für den CEDIA Barbiturat-Assays wird rekombinante DNA-Technologie (US-Patentnr. 4708929) angewendet, um ein besonderes homogenes Enzymimmunoassay-System herzustellen.⁷ Der Assay beruht auf dem bakteriellen Enzym b-Galaktosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente zerlegt wurde. Diese Fragmente verbinden sich spontan wieder unter Bildung des voll aktiven Enzyms, das bei der Durchführung des Tests ein Substrat spaltet und damit eine spektrophotometrisch messbare Farbänderung hervorruft.

Barbiturat, an ein inaktives Fragment der β-Galaktosidase konjugiert, konkurriert im Assay mit Barbiturat aus der Probe um eine Antikörperbindungsstelle. Enthält die Probe Barbiturat, so bindet es sich an Antikörper. Die inaktiven Enzymfragmente bilden ein aktives Enzym. Enthält die Probe kein Barbiturat, so binden sich Antikörper an das mit dem inaktiven Enzymfragment konjugierte Barbiturat und verhindern sterisch die Rekombination der inaktiven Enzymfragmente. Es wird kein aktives Enzym gebildet. Die Menge des gebildeten, aktiven Enzyms und die daraus resultierende Änderung der Extinktion sind der Barbituratmenge in der Probe proportional.

Reagenzien

- 1 EA-Rekonstitutionspuffer:** Enthält Piperazin-N, N-bis-[2-ethansulfonsäure]-Puffer, 2,2 µg/ml monoklonale, auf Barbiturate reaktive Antikörper (Maus), Puffersalze, Stabilisator und Konservierungsmittel.
- 1a EA-Reagens:** Enthält 0,171 g/L Enzym-Akzeptor, Puffersalze, Detergens und Konservierungsmittel.
- 2 ED-Rekonstitutionspuffer:** Enthält Piperazin-N,N-bis [2-ethansulfonsäure], Puffersalze und Konservierungsmittel.
- 2a ED-Reagens:** Enthält 17,1 µg/L Enzym-Spender, der an ein Barbiturat-Derivat konjugiert ist, 1,67 g/L Chlorphenolrot-β-D-Galaktopyranosid, Stabilisator und Konservierungsmittel.

Zusätzliche Materialien: Alternative Strichcode-Etiketten (nur Bestellnr. 100084 und 100093. Gebrauchsanweisungen finden Sie im Applikationsblatt für das jeweilige Analysegerät.) Leere Analysegerät-Fläschchen für EA/ED-Lösung (Bestellnr. 100093). Leere Analysegerät-Fläschchen für ED-Lösung (nur Bestellnr. 1661213).

Zusätzliche benötigte Materialien (separat verkauft):

- CEDIA Negativkalibrator
- CEDIA Mehrfachdrogen-Kalibrator, Haupt-Cutoffs oder klinische Haupt-Cutoffs, 300 ng/mL
- CEDIA Mehrfachdrogen-Kalibrator, Neben-Cutoffs oder optionale Cutoffs, 200 ng/mL
- CEDIA Mehrfachdrogen-Zwischenkalibrator
- CEDIA Mehrfachdrogen-Hochkalibrator
- Für Cutoff von 300 ng/mL: Mehrfachdrogen-Kontrollsatz oder klinischer Mehrfachdrogen- Kontrollsatz
- Für Cutoff von 200 ng/mL: Spezialkontrollsatz oder optionaler Mehrfachdrogen-Kontrollsatz

Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen

GEFAHR: Pulverreagens enthält ≤ 56 Gew. % Rinderserumalbumin (BSA) und ≤ 2 Gew. % Natriumazid. Flüssigreagens enthält ≤ 1,0 % Rinderserumalbumin und ≤ 0,3 % Natriumazid und ≤ 0,1 % wirkstoffspezifische Antikörper (Maus).

- H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
- H334 – Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.
- EUH032 – Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Staub/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/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: Giftinformationszentrum oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Vorbereitung und Aufbewahrung der Reagenzien

Das Kit unmittelbar vor der Vorbereitung der Lösungen aus dem Kühlschrank nehmen.

Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, sollten die Lösungen in folgender Reihenfolge zubereitet werden:

R2 - Enzym-Spender-Lösung: Fläschchen 2a (ED-Reagens) mit Fläschchen 2 (ED-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 2a in Fläschchen 2 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und entsorgen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-25°C) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken.

R1 - Enzym-Akzeptor-Lösung: Fläschchen 1a (EA-Reagens) mit Fläschchen 1 (EA Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 1a in Fläschchen 1 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 1a und Adapter von Fläschchen 1 abnehmen und wegwerfen. Fläschchen 1 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-25°C) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken.

- HINWEIS 1:** Die Komponenten dieses Kits sind zum Gebrauch als eine Einheit vorgesehen. Komponenten verschiedener Chargen nicht mischen.
- HINWEIS 2:** Kreuzkontamination von Reagenzien durch Verwechslung der Fläschchenstüpsel vermeiden. Die R2-Lösung sollte gelb-orange sein. Wenn das Reagens dunkelrot oder purpurrot ist, wurde es kontaminiert und muss entsorgt werden.
- HINWEIS 3:** Die R1- und R2-Lösung muss vor Durchführung des Assays die Lagerungstemperatur des Reagensfaches des Analysegerätes erreichen. Zusätzliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt für das jeweilige Analysegerät.
- HINWEIS 4:** Vor längerer starker Lichteinwirkung schützen, um die Stabilität der rekonstituierten EA-Lösung zu gewährleisten.

Die Reagenzien bei 2-8°C aufbewahren. **NICHT EINFRIEREN.** Die Stabilität der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf den Etiketten der Verpackung und Fläschchen zu entnehmen.

- R1-Lösung:** 60 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8°C.
- R2-Lösung:** 60 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8°C.

Probennahme und -handhabung

Urinproben in Kunststoffbehältern oder Glasgefäßen sammeln.

Proben, die bei Raumtemperatur aufbewahrt und innerhalb von 7 Tagen⁸ nach der Ankunft im Labor keinem Eingangstest unterzogen werden, können bis zu 7 Tage lang in einer sicheren Kälteeinheit bei 2 bis 8 °C gelagert werden.⁹ Bei einer längeren Lagerung vor der Untersuchung oder zur Aufbewahrung der Proben nach der Untersuchung sollten diese bei -20 °C aufbewahrt werden¹⁰

Labore, die nach den verbindlichen SAMHSA-Richtlinien arbeiten, sollten sich an die SAMHSA-Bestimmungen zur „Kurzeitigen gekühlten Lagerung“ und zur „Langfristigen Lagerung“ halten.¹¹

Zum Schutz der Probenintegrität sollte Schaumbildung sowie wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermieden werden. Pipettierte Proben sollten möglichst frei von groben Verschmutzungen gehalten werden. Es wird empfohlen, stark eingetrübte Proben vor der Analyse zu zentrifugieren. Tiefgekühlte Proben sind vor der Analyse vollständig aufzutauen und gründlich zu vermischen. Eine Verfälschung von Urinproben kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Falls eine Verunreinigung vermutet wird, sollte eine weitere Probe genommen und beide Proben an das Labor geschickt werden.

Alle Urinproben sind wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.

Durchführung des Assays

Zur Durchführung dieses Assays können Geräte für chemische Analysen verwendet werden, bei denen die Temperatur konstant gehalten wird und mit denen Proben pipettiert, Reagenzien gemischt, die Geschwindigkeit von Enzymreaktionen gemessen und die Reaktionszeit genau bestimmt werden kann. Applikationsblätter mit spezifischen Instrumentparametern können von Microgenics, teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.

Für die halbquantitative Bestimmung werden nur mit den 17-mL-Kits und 65-mL-Kits zusätzliche Strichcode-Etiketten zur Verfügung gestellt. Überkleben Sie auf jeder Flasche das alte Etikett mit dem richtigen Etikett.

Qualitätskontrolle und Kalibration²

Qualitative Analyse

Verwenden Sie zur qualitativen Analyse von Proben den Mehrfachdrogen-Kalibrator, die Haupt-Cutoffs und klinischen Haupt-Cutoffs, die Neben-Cutoffs oder die optionalen Cutoffs (je nach gewählter Cutoff-Schwelle). Siehe Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

Semi-quantitativen Analyse

Verwenden Sie zur semi-quantitativen Analyse von Proben den CEDIA-Mehrfachdrogen-Kalibrator, die Haupt-Cutoffs und klinischen Haupt-Cutoffs, die Neben-Cutoffs oder die optionalen Cutoffs, zusammen mit dem CEDIA-Negativkalibrator und dem Mehrfachdrogen-Zwischenkalibrator und -Hochkalibrator. Siehe Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

Bei Reagenswechsel sowie bei Abweichungen in den Kontrollwerten sollte die Kalibrierung wiederholt werden. Jedes Labor sollte die Häufigkeit seiner Kontrollen selbst festlegen. Nach guter Laborpraxis sollten Kontrollbestimmungen an allen Tagen, an denen Patientenproben untersucht werden, und bei jeder Kalibrierung durchgeführt werden. Es wird empfohlen, mit 2 Qualitätskontrollen zu überprüfen: die eine 25% über dem gewählten Cutoff, die andere 25% unter dem gewählten Cutoff. Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle den CEDIA-Mehrfachdrogen-Kontrollsatz oder klinischen Mehrfachdrogen-Kontrollsatz (300 Cutoff) oder dem gewählten Cutoff, die andere 25% unter dem gewählten Cutoff. Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle den CEDIA-Mehrfachdrogen-Kontrollsatz oder klinischen Mehrfachdrogen-Kontrollsatz (300 Cutoff) oder Spezialkontrollsatz, oder den optionalen Mehrfachdrogen-Kontrollsatz (200 Cutoff). Bei Reagenswechsel sowie bei Abweichungen in den Kontrollwerten sollte die Kalibrierung wiederholt werden. Jedes Labor sollte die Häufigkeit seiner Kontrollen selbst festlegen. Die Kontrollwerte sollten innerhalb eines definierten Kontrollbereichs liegen. Wenn Sie Änderungstendenzen oder plötzliche Änderungen sehen, sollten Sie alle Betriebsparameter überprüfen oder sich mit dem Kundendienst von Thermo Fisher Scientific in Verbindung setzen. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

Ergebnisse und erwartete Werte

Qualitative Ergebnisse

Der CEDIA-Mehrfachdrogen-Kalibrator, die Haupt-Cutoffs und klinischen Haupt-Cutoffs, die Neben-Cutoffs oder die optionalen Cutoffs (je nach gewählter Cutoff-Schwelle), werden als Referenz zur Unterscheidung zwischen positiven und negativen Proben verwendet. Proben mit denselben Werten wie der Kalibrator oder höheren Werten gelten als positiv. Proben mit Werten unter der Konzentration des Kalibrators gelten als negativ. Zusätzliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

Halbquantitative Ergebnisse

Der CEDIA-Mehrfachdrogen-Kalibrator, die Haupt-Cutoffs und klinischen Haupt-Cutoffs, die Neben-Cutoffs oder die optionalen Cutoffs, zusammen mit dem CEDIA-Negativkalibrator und dem Mehrfachdrogen-Zwischenkalibrator und -Hochkalibrator, können zur Abschätzung der relativen Konzentration von Barbituraten verwendet werden. Ausführliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

Zur Angabe der Konzentrationswerte sollten andere Faktoren, welche das Urintestergebnis beeinflussen können, berücksichtigt werden. Dazu gehören weitere biologische Faktoren wie z.B. die Flüssigkeitsaufnahme.

Einschränkungen

1. Ein positives Testergebnis zeigt das Vorhandensein von Barbituraten an; es besagt jedoch nichts über das Vorliegen oder den Grad einer Intoxikation.
2. Andere Substanzen und/oder Faktoren (z.B. technische Fehler oder Verfahrensfehler), die hier nicht aufgelistet sind, können den Test stören und zu falschen Ergebnissen führen.

Spezifische Leistungsdaten

Typische, mit dem Hitachi 717 Analysegerät erhaltene Ergebnisse werden unten gezeigt.⁸ Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse von diesen Daten.

Präzision

In Präzisionsstudien mit verpackten Reagenzien und Kalibratoren wurden mit dem Hitachi 717 Analysegerät unter Befolgung der amerikanischen NCCLS-Richtlinien für modifizierte Replikationsexperimente die folgenden Ergebnisse in mA/min erhalten (2 Durchläufe pro Tag, n=6/Durchlauf, für 10 Tage).

Serien-Präzision				
ng/mL	200	225	300	375
n	120	120	120	120
\bar{x}	353,6	368,0	403,1	435,4
SD	5,4	4,1	3,5	4,9
CV	1,5%	1,1%	0,9%	1,1%

Gesamt-Präzision				
ng/mL	200	225	300	375
n	120	120	120	120
\bar{x}	353,6	368,0	403,1	435,4
SD	10,6	10,8	10,8	12,0
CV	3,0%	2,9%	2,7%	2,8%

Genauigkeit

Es wurden 609 Proben mit dem CEDIA Barbiturat-Assay am Hitachi 717 mit einem im Handel erhältlichen Enzymimmunoassay für Barbiturate als Referenz überprüft. Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

A. 200 ng/mL Cutoff			B. 300 ng/mL Cutoff		
CEDIA			CEDIA		
	+	-		+	-
EIA	+ 111	0	+ 103	0	
	- 1*	497	- 5†	501	

* Die Proben wurden mit GC/MS analysiert und enthielten 152 ng/mL Phenobarbital.

† Die Proben wurden mit GC/MS analysiert und enthielten 471-157 ng/mL Phenobarbital.

Spezifität

Die folgenden Stammverbindungen und Metaboliten ergaben bei Prüfung mit dem CEDIA Barbiturat Assay (Cutoff-Protokoll 200 ng/mL) die folgenden Ergebnisse zur Kreuzreaktivität (in %):

Substanz	Untersuchte Konzentration (ng/mL)	% Kreuzreaktion
Amobarbital	207	109
Aprobarbital	195	80
Barbital	1.000	18
Butabarbital	198	78
Butalbital	213	92
Cyclopentobarbital	190	115
Pentobarbital	270	66
Phenobarbital	195	83
Secobarbital	200	100
Talbutal	130	160

Strukturell nicht verwandte Substanzen wurden mit dem CEDIA Barbiturat Assay (Cutoff-Protokoll 200 ng/mL) untersucht und zeigten bei den unten aufgelisteten Konzentrationen ein negatives Ergebnis.

Substanz	Konzentration (ng/mL)	Substanz	Konzentration (ng/mL)
Acetaminophen	500.000	Ibuprofen	500.000
Acetylsalicylsäure	500.000	Levothyroxin	50.000
Amoxicillin	100.000	Methadon	500.000
Amphetamin	500.000	Methamphetamin	500.000
Benzoylgonin	500.000	Nifedipin	500.000
Captopril	500.000	Phencyclidin	500.000
Chlordiazepoxid	100.000	Propoxyphen	500.000
Cimetidin	500.000	Ranitidin	500.000
Diazepam	500.000	Salicylsäure	500.000
Digoxin	100.000	11-nor- Δ^9 -THC-COOH	10.000
Enalapril	500.000	Verapamil	500.000
Fluoxetin	500.000		

Folgende Substanzen, die dem Urin zusätzlich zu normalerweise vorhandenen Konzentrationen zugesetzt wurden, verursachten keine Störungen bei der Untersuchung mit dem CEDIA Barbiturat Assay:

Substanz	Konzentration	Substanz	Konzentration
Ascorbinsäure	≤ 1.5 g/dL	Harnstoff	≤ 2.0 g/dL
Äthanol	≤ 1.0 g/dL	Humanserum Albumin	≤ 0.5 g/dL
Azetone	≤ 1.0 g/dL	Kreatinin	≤ 0.5 g/dL
Galaktose	≤ 10 mg/dL	Kochsalz	≤ 6.0 g/dL
Gammaglobulin	≤ 0.5 g/dL	Oxalsäure	≤ 0.1 g/dL
Glukose	≤ 1.5 g/dL	Riboflavin	≤ 7.5 mg/dL
Hämoglobin	≤ 0.3 g/dL		

Sensitivität

Bei der qualitativen Analyse lag die Nachweisgrenze (LOD) bei 13,7 ng/mL bzw. 15,2 ng/mL bezogen auf die 200 ng/mL bzw. 300 ng/mL Cutoff-Protokolle.

Literatur

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986; 73: 30-41.
2. Miller NS, Gold MS. Sedative/hypnotics. In: Giannini AJ, Slaby AE, eds. Drugs of Abuse. Oradell, NJ: Medical Economics Books, 1989.
3. Jones KL, Shainberg LW, Byer CO. Drugs and Alcohol. 3rd ed. New York, NY: Harper & Row; 1979.
4. Julien RM. A Primer of Drug Action. 6th ed. New York, NY: WH Freeman & Co; 1992.
5. Miller NS, Gold MS. Sedative-hypnotics: Pharmacology and use. J Fam Practice. 1989; 29: 665-670.
6. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals In Man. 4th ed. Foster City, Calif.: Chemical Toxicology Institute; 1995
7. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem 1986; 32: 1637-1641.
8. Daten können bei Microgenics Corporation, teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.
9. Cao Z, Kaleta E, Wang P. Simultaneous Quantitation of 78 Drugs and Metabolites in Urine with a Dilute-And-Shoot LC-MS-MS Assay. J Analytical Toxicology 2015;39:335-346.
10. C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (April 2007).
11. 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.
12. Daten über Nachweisbarkeit können bei Microgenics Corporation, teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.

Glossar:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Gebührenfrei in den USA:
1-800-232-3342



EC REP

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



Aktualisierte Packungsbeilagen finden Sie unter:
www.thermofisher.com/diagnostics

Andere Länder:

Wenden Sie sich bitte an die zuständige Vertretung von Microgenics.

10006441-11-DE
2019 06

thermo
scientific