

Dosaggio CEDIA™ per barbiturato

IVD Per uso diagnostico in vitro

Rx Only

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

Uso previsto

Il dosaggio CEDIA™ per barbiturato è uno strumento diagnostico in vitro previsto per la determinazione qualitativa e semiquantitativa dei barbiturati nell'urina umana.

Questo dosaggio fornisce unicamente un risultato analitico preliminare. Per ottenere un risultato analitico di conferma, è necessario utilizzare un metodo chimico alternativo a specificità più elevata. Il metodo di conferma più idoneo è la gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).¹ Qualsiasi risultato di analisi riguardante sostanze stupefacenti, soprattutto nel caso di un risultato preliminare positivo, va trattato con la considerazione clinica e la discrezione professionale opportune.

Sommario e spiegazione del metodo

I barbiturati appartengono ad una grande categoria di farmaci depressivi agenti sul SNC, conosciuti col nome di sedativi e ipnotici.^{2,4} Quando i barbiturati vengono usati abusivamente, la loro somministrazione avviene solitamente sotto forma di compresse, ma i tossicodipendenti a volte hanno anche sciolto e iniettato questi composti.^{2,3,5}

A seconda del loro grado di liposolubilità, i barbiturati vengono categorizzati come composti ad azione breve, ad azione intermedia e ad azione prolungata.^{2,6} Le loro emivite variano da 20 a 120 ore.^{4,6} I barbiturati vengono metabolizzati in modo svariato dal fegato ed espulsi nell'urina, in parte sotto forma di metaboliti attivi o inattivi, in parte sotto forma inalterata.^{4,6} A seconda del tipo di barbiturato, l'esame dell'urina può dare risultati positivi fino a 30 ore, in parte persino fino a qualche settimana dopo la somministrazione del farmaco.⁴

Il dosaggio CEDIA per barbiturato è un immunodosaggio enzimatico omogeneo che si avvale della tecnologia del DNA ricombinante (brevetto USA n. 4708929).⁷ Questo dosaggio è basato sull'enzima batterico β -galattosidasi, geneticamente suddiviso in due frammenti inattivi. Questi frammenti si riassociano spontaneamente per formare un enzima pienamente attivo in grado di legarsi, nel formato del dosaggio, ad un substrato, dando luogo ad una variazione cromatica misurabile spettrofotometricamente.

Nel dosaggio, il farmaco nel campione compete con il farmaco coniugato con un frammento inattivo di β -galattosidasi per i siti di legame degli anticorpi. Se la droga è presente nel campione, si legherà all'anticorpo, lasciando i frammenti enzimatici inattivi liberi di formare enzimi attivi. Se il farmaco non è presente nel campione, l'anticorpo si legherà al farmaco coniugato con il frammento enzimatico inattivo, inibendo stericamente la riassociazione dei frammenti inattivi di enzima, e non si verificherà la formazione di alcun enzima attivo. La quantità di enzima attivo formata ed il risultante cambiamento dell'estinzione sono proporzionali alla concentrazione del farmaco presente nel campione.

Reagenti

- 1 Tampone di ricostituzione per EA:** Contiene piperazina-N,N-bis [2-acido etanosulfonico], 2,2 μ g/ml di anticorpi monoclonali murini per barbiturici, sali tampone, stabilizzatore e conservante.
- 1a Reagente EA:** Contiene 0,171 g/L di accettore enzimatico, sali tampone, detergente e conservante.
- 2 Tampone di ricostituzione ED:** Contiene piperazina-N,N-bis [acido 2-etanosulfonico], sali tampone e conservante.
- 2a Reagente ED:** Contiene 17,1 μ g/L di donatore enzimatico coniugato con un derivato del barbiturato, 1,67 g/L di rosso di clorofenolo- β -D-galattopiranoside, stabilizzante e conservante.

Ulteriori materiali: Etichette alternative con codici a barre (solo per n. di cat. 100084 e 100093). Per le istruzioni per l'uso, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore (in dotazione). Flaconi vuoti per analizzatore per il travaso delle soluzioni EA/ED (n. di cat. 100093) Flacone vuoto per analizzatore per il travaso delle soluzioni ED (solo per n. di cat. 1661213).

Ulteriori materiali necessari (venduti separatamente):

Calibratore negativo CEDIA
Calibratore multi-farmaco CEDIA, valori limite primari o valori limite clinici primari, 300 ng/mL
Calibratore multi-farmaco CEDIA, valori limite secondari o valori limite opzionali, 200 ng/mL
Calibratore multi-farmaco intermedio CEDIA
Calibratore multi-farmaco alto CEDIA
Per il valore limite di 300 ng/mL: set di controlli multi-farmaco o set di controlli clinici multifarmaco
Per il valore limite di 200 ng/mL: set di controlli speciali o set di controlli opzionali multi-farmaco

⚠ Avvertenze e precauzioni

PERICOLO: il reagente in polvere contiene $\leq 56\%$ p/p di albumina sierica bovina (BSA) e $\leq 2\%$ p/p di sodio azide. Il reagente liquido contiene $\leq 1,0\%$ p/p di siero bovino, $\leq 0,3\%$ p/p di sodio azide e $\leq 0,1\%$ di anticorpo specifico del farmaco (topo).

H317 – Può provocare una reazione allergica cutanea.

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

EUH032 – A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Non respirare polveri, nubi, vapori e spray. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/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 posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: 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.

Preparazione e conservazione dei reagenti

Estrarre il kit dal frigorifero appena prima della preparazione delle soluzioni.

Preparare le soluzioni nel seguente ordine per ridurre al minimo la possibilità di contaminazione.

Soluzione R2 di donatore enzimatico: Collegare il flacone 2a (reagente per ED) al flacone 2 (tampone di ricostituzione per ED) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a si trasferisca nel flacone 2. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 2a e l'adattatore dal flacone 2 e gettarli. Tappare il flacone 2 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25°C). Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone.

Soluzione R1 di accettore enzimatico: Collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 (tampone di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori forniti. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a si trasferisca nel flacone 1. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 1a e l'adattatore dal flacone 1 e gettarli. Tappare il flacone 1 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25°C). Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone.

NOTA 1: I componenti forniti in questo kit sono previsti per l'uso concomitante. Non mescolare tra loro componenti di lotti diversi.

NOTA 2: Per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, non scambiare tra loro i tappi dei diversi flaconi. La soluzione R2 deve essere di colore giallo arancio. La comparsa di un colore rosso scuro o rosso porpora indica la contaminazione del reagente, che va quindi eliminato.

NOTA 3: Prima dell'esecuzione del dosaggio, le soluzioni R1 e R2 vanno portate alla temperatura dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

NOTA 4: Per garantire la stabilità della soluzione EA ricostituita, non esporla per un periodo prolungato all'azione diretta di forti sorgenti luminose.

Conservare i reagenti a 2-8°C. **NON CONGELARLI.** Per il periodo di stabilità dei componenti non aperti, vedere la data di scadenza sulla confezione o sulle etichette dei flaconi.

Soluzione R1: 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

Soluzione R2: 60 giorni nello scomparto refrigerato dell'analizzatore oppure in frigorifero a 2-8°C.

Raccolta e trattamento del campione

Prelevare i campioni di urina in contenitori di plastica o vetro.

I campioni mantenuti a temperatura ambiente che non vengono inizialmente analizzati entro 7 giorni⁸ 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.⁹ La conservazione dei campioni di urina per periodi più lunghi prima o dopo l'analisi deve essere effettuata a una temperatura di -20 °C.¹⁰

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).¹¹

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.

Procedura di analisi

Ai fini del presente dosaggio è possibile utilizzare gli analizzatori chimici in grado di mantenere una temperatura costante, pipettare i campioni, miscelare i reagenti, misurare i tassi enzimatici e regolare con precisione i tempi di reazione. Fogli delle applicazioni riportanti i parametri specifici per ciascun analizzatore sono disponibili presso la Microgenics, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.

Solo con i kit da 17 mL e da 65 ml vengono fornite etichette con codice a barre supplementari per la determinazione semiquantitativa. A tal fine, apporre l'etichetta corretta sopra l'etichetta già presente sul flacone.

Controllo di qualità e calibrazione¹²

Analisi qualitativa

Per esaminare i risultati dell'analisi qualitativa dei campioni, usare il calibratore multi-farmaco, i valori limite primari, i valori limite clinici primari, i valori limite secondari o i valori limite opzionali (a seconda del valore limite selezionato). Consultare il foglio delle applicazioni specifico per l'analizzatore in dotazione.

Analisi semiquantitativa

Per esaminare i risultati dell'analisi semiquantitativa dei campioni, usare il calibratore multifarmaco CEDIA, i valori limite primari, i valori limite clinici primari, i valori limite secondari o i valori limite opzionali insieme al calibratore negativo CEDIA e i calibratori multi-farmaco intermedio e alto. Consultare il foglio delle applicazioni specifico per l'analizzatore in dotazione.

I calibratori dovrebbero essere rianalizzati se ci fosse un cambiamento nei reattivi oppure se i risultati di controllo si trovassero al di fuori dei limiti stabiliti. Ogni laboratorio deve determinare indipendentemente la frequenza dei suoi controlli. Una buona prassi di laboratorio prevede l'analisi dei controlli parallelamente all'analisi dei campioni dei pazienti e ad ogni calibrazione. Si raccomandano due livelli di controllo: uno 25% al di sopra del limite selezionato e l'altro 25% al di sotto del limite selezionato. Per il controllo di qualità, usare il set di controlli multi-farmaco o il set di controlli clinici multi-farmaco CEDIA, (valore limite 300) o il set di controlli speciali o il set di controlli opzionali multi-farmaco, (valore limite 200). I calibratori dovrebbero essere rianalizzati se ci fosse un cambiamento nei reattivi oppure se i risultati di controllo si trovassero al di fuori dei limiti stabiliti. Ogni laboratorio deve determinare indipendentemente la frequenza dei suoi controlli. I valori dei tassi ottenuti per i controlli devono rientrare nei limiti specifici. Se si riscontrano tendenze marcate o deviazioni improvvise nei valori, riesaminare tutti i parametri operativi o rivolgersi al servizio di assistenza tecnica della Thermo Fisher Scientific per ulteriore assistenza. Tutti i requisiti di controllo della qualità vanno soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento.

Risultati e valori attesi

Risultati qualitativi

Il calibratore multi-farmaco CEDIA, i valori limite primari, i valori limite clinici primari, i valori limite secondari o i valori limite opzionali (a seconda dei valori limite selezionati) vengono usati come riferimento per distinguere i campioni positivi da quelli negativi. I campioni che generano un valore di risposta uguale o maggiore rispetto al valore di risposta del calibratore sono considerati positivi. I campioni che generano un valore di risposta inferiore rispetto a quello del calibratore sono considerati negativi. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

Risultati semiquantitativi

Il calibratore multi-farmaco CEDIA, i valori limite primari, i valori limite clinici primari, i valori limite secondari o i valori limite opzionali, usati insieme al calibratore negativo e ai calibratori multi-farmaco intermedio e alto, possono essere utilizzati per stimare le concentrazioni relative di barbiturati. Per informazioni più dettagliate, consultare il foglio delle applicazioni relativo all'analizzatore in dotazione.

Si dovrebbe aver cura quando si annotano i risultati delle concentrazioni in quanto esistono molti altri fattori che possono alterare il risultato del test dell'urina, come l'assorbimento di liquidi e altri fattori biologici.

Limitazioni

- Un risultato di analisi positivo indica la presenza di barbiturato; non indica o misura il livello di intossicazione.
- Esiste la possibilità che altre sostanze e/o fattori non elencati (come ad esempio gli errori tecnici o procedurali) possano interferire con l'analisi e dar luogo a risultati falsi.

Caratteristiche specifiche del rendimento del test

Le caratteristiche di rendimento del test tipiche ottenibili mediante l'analizzatore Hitachi 717 sono riportate qui di seguito.⁸ I valori ottenuti nei diversi laboratori possono essere differenti da quelli riportati in questa sede.

Precisione

Gli studi di precisione effettuati utilizzando reagenti e calibratori confezionati hanno prodotto i seguenti risultati espressi in mA/min con un analizzatore Hitachi 717 e seguendo le linee guida per esperimenti di replicazione modificata NCCLS (2 cicli al giorno, n=6/cicli, per 10 giorni).

Precisione entro la prova				
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%

Precisione totale				
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%

Accuratezza

609 campioni sono stati analizzati con il dosaggio CEDIA per barbiturato sull'analizzatore Hitachi 717, usando come riferimento un metodo IDE per barbiturati commerciale. Sono stati ottenuti i seguenti risultati. Sono stati ottenuti i seguenti risultati:

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

* I campioni sono stati analizzati mediante gascromatografia/ spettrometria di massa (GC/MS) ed è risultato che contenevano 152 ng/mL di fenobarbitale.

† I campioni sono stati analizzati mediante GC/MS ed è risultato che contenevano 471-1578 ng/mL di fenobarbitale.

Specificità

I seguenti composti progenitori e metaboliti, quando sono stati analizzati con il dosaggio CEDIA per barbiturati, protocollo valore limite 200 ng/mL, hanno dato i seguenti risultati percentuali di reattività crociata:

Composto	Concentrazione esaminata (ng/mL)	Reattività crociata %
Amobarbital	207	109
Aprobarbital	195	80
Barbital	1.000	18
Butabarbital	198	78
Butalbital	213	92
Ciclopentobarbital	190	115
Fhenobarbital	195	83
Pentobarbital	270	66
Secobarbital	200	100
Talbutal	130	160

Si sono analizzati con il dosaggio CEDIA per barbiturato (protocollo valore limite 200 ng/mL) anche composti non strutturalmente correlati che, alle concentrazioni qui di seguito elencate, hanno dato risultati negativi.

Composta	Concentrazione testata (ng/mL)	Composta	Concentrazione testata (ng/mL)
Acetaminofene	500.000	Fenciclidina	500.000
Ácido acetilsalicílico	500.000	Fluossetina	500.000
Ácido salicílico	500.000	Ibuprofene	500.000
Amfetamina	500.000	Levotiroxina	50.000
Amoxicilina	100.000	Metadone	500.000
Benzoilecgonina	500.000	Metamfetamina	500.000
Captoprile	500.000	Nifedipina	500.000
Cimetidina	500.000	Propossifene	500.000
Clordiazepossido	100.000	Ranitidina	500.000
Diazepam	500.000	11-nor- Δ^9 -THC-COOH	10.000
Digossina	100.000	Verapamil	500.000
Enalaprile	500.000		

Non è stata osservata alcuna interferenza dovuta all'aggiunta delle seguenti sostanze alle normali concentrazioni endogene ritrovate nelle urine con il dosaggio CEDIA per barbiturato:

Sostanza	Concentrazione testata	Sostanza	Concentrazione testata
Acetone	≤ 1,0 g/dL	Etanolo	≤ 1,0 g/dL
Ácido ascorbico	≤ 1,5 g/dL	Galattosi	≤ 10 mg/dL
Ácido ossalico	≤ 0,1 g/dL	γ -globulina	≤ 0,5 g/dL
Sieroalbumina umana	≤ 0,5 g/dL	Glucosio	≤ 1,5 g/dL
Cloruro di sodio	≤ 6,0 g/dL	Riboflavina	≤ 7,5 mg/dL
Creatinina	≤ 0,5 g/dL	Urea	≤ 2,0 g/dL
Emoglobina	≤ 0,3 g/dL		

Sensibilità

Per l'applicazione qualitativa, il limite di rilevamento (LOD) è stato rispettivamente di 13,7 ng/mL e di 15,2 ng/mL per i protocolli valore limite 200 ng/mL e 300 ng/mL.

Bibliografia

- Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986; 73: 30-41.
- Miller NS, Gold MS. Sedative/hypnotics. In: Giannini AJ, Slaby AE, eds. Drugs of Abuse. Oradell, NJ: Medical Economics Books, 1989.
- Jones KL, Shainberg LW, Byer CO. Drugs and Alcohol. 3rd ed. New York, NY: Harper & Row, 1979.
- Julien RM. A Primer of Drug Action. 6th ed. New York, NY: WH Freeman & Co; 1992.
- Miller NS, Gold MS. Sedative-hypnotics: Pharmacology and use. J Fam Practice. 1989; 29: 665-670.
- Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals In Man. 4th ed. Foster City, Calif.: Chemical Toxicology Institute; 1995
- Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem 1986; 32:1637-1641.
- Dati disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.
- 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.
- C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (April 2007)
- Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines; Federal Register, Substance Abuse and Mental Health Administration (SAMHSA), (1994) 110 (June9):11983.
- Dati sulla tracciabilità sono disponibili presso la Microgenics Corporation, che fa parte della Thermo Fisher Scientific.

Glossario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Numero verde per chi
chiama dagli USA:
1-800-232-3342



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



Per gli aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare:
www.thermofisher.com/diagnostics

Negli altri Paesi:

Consultare il rappresentante Thermo Fisher Scientific di zona.