

AMBALARE

R1: 1 x 42 ml

R2: 1 x 16 ml

SCOPUL UTILIZARII

Analiza imunoenzimatica a benzodiazepinelor (EIA) este un sistem de imunotestare enzimatic omogen destinat utilizarii in analiza calitativa si semi-cantitativa a benzodiazepinelor in urina umana.

Analiza ofera doar un rezultat analitic preliminar. Pentru a obtine un rezultat analitic confirmat este necesara utilizarea unei metode chimice alternative mai specifice. Metoda preferata de confirmare este cromatografia de gaz / spectrometria de masa (GC / MS). Consideratia clinica si rationamentul profesional trebuie sa fie exercitate asupra oricarui rezultat, pentru a stabili tratamentul sau terapia adecvata.

PRINCIPIUL METODEI

Imunotestul pentru benzodiazepine este o analiza imunologica omogena cu reactiv lichid gata de utilizare. Analiza se bazeaza pe concurenta dintre medicamentul din proba si medicamentul marcat cu enzima glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G6PDH) pentru o cantitate fixa de anticorp in reactiv. Activitatea enzimatica scade odata cu legarea la anticorp si concentratia medicamentului din proba este masurata in termeni de activitate enzimatica.

In absenta medicamentului din proba, conjugatul G6PDH marcat cu benzodiazepina este legat de anticorp si activitatea enzimatica este inhibata. Pe de alta parte, atunci cand medicamentul liber este prezent in proba, anticorpul se va lega de medicamentul liber; G6PDH marcat cu benzodiazepine nelegat, prezinta apoi activitatea maxima a enzimei. Enzima activa converteste nicotinamid-adenin dinucleotida (NAD) la NADH, rezultand o schimbare de absorbtie care poate fi masurata spectrofotometric la 340 nm.

SEMNIFICATIA TESTULUI

Familia benzodiazepinica are o structura chimica diversa, care da nastere unei game de proprietati fizico-chimice si farmacologice. Ele formeaza un grup mare si sunt utilizate ca sedative si in tratamentul anxietatii. Se estimeaza ca peste 50 de medicamente benzodiazepinice sunt utilizate in mod obișnuit la nivel mondial, cu aproximativ o duzina comercializata intr-o tara data. Benzodiazepinele sunt foarte frecvent asociate cu utilizatorii de opiacee.

Acestea sunt de obicei administrate pe cale orala (desi se utilizeaza si caile intravenoase si intramusculare) si asa cum se asteapta de la un grup atat de divers, efectele farmacologice sunt largi si sunt, de asemenea, legate de rata de absorbtie. In general, ele sunt extensiv metabolizate prin dealchilare, hidroxilare, oxidare si glucuronizare in ficat.

Unii metaboliti au activitate biologica; de exemplu, nordiazepam din diazepam si oxazepam din temazepam. Detectarea benzodiazepinelor si a metabolitilor lor in urina poate fi utilizata ca indicatie pentru utilizarea benzodiazepinelor.

REACTIVI

Anticorp / reactivsubstrat (R1) : Contine anticorpi monoclonali de soarene benzodiazepine, glucoz-6-fosfat (G6P), nicotinamidadinina dinucleotida (NAD), stabilizatori si conservant azid de sodiu.

Reactiv conjugat enzima-medicament (R2) : Contine glucozo-6-fosfat dehidrogenaza marcata cu benzodiazepina (G6PDH) in solutie tampon cu conservant azid de sodiu.

Evitati expunerile prelungite ale reactivului la temperaturi mai mari de 25°C.

PREPARARE

Reactivii sunt gata de utilizare. Nu este necesara pregatirea reactivului. Toate componentele testului trebuie pastrate la frigider atunci cand nu sunt folosite.

AVERTISMENT SI PRECAUTII

Acest test este destinat numai utilizarii diagnostice in vitro. Daunator daca este inghitit.

Reactivii utilizati in analiza contin azid de sodiu care poate reactiona cu plumb sau cupru pentru a forma azida metalica potential exploziva. Atunci cand eliminati astfel de reactivi sau deseuri, intotdeauna spalati cu un volum mare de apa pentru a preveni acumularea de azide.

Nu utilizati reactivii dupa datele de expirare.

Pastrati toate recipientele inchise cand nu le utilizati pentru a evita contaminarea microbiana.

Nu amestecati reactivii de la diferiti producatori.

Nu congelati reactivii.

Concentratia finala a componentelor este sub limitele impuse de Regulamentul (CE) nr. 1272/2008 - CLP (si amendamentele ulterioare) si Directiva 88/379 / CEE si amendamentele ulterioare la clasificarea ambalajelor si etichetarea substantelor periculoase.

RECOLTAREA PROBELOR

Esantioanele de urina pot fi colectate in recipiente din plastic sau din sticla. Unele materiale plastice pot absorbi medicamente. Utilizati un specimen proaspăt de urina pentru test. Daca proba nu poate fi analizata imediat, aceasta poate fi pastrata la frigider timp de pana la 3 zile. Pentru depozitarea mai lunga pastrati proba congelata si apoi dezghetati inainte de utilizare. Probele trebuie aduse la temperatura camerei de 18-25°C pentru testare. Probele cu turbiditate ridicata trebuie centrifugate inainte de analiza. Probele de urina din intervalul normal de pH de 5-8 pot fi testate fara niciun tratament prealabil. Probele de urina proaspete si bine depozitate sunt, in general, in acest interval. Probele cu pH in afara intervalului trebuie ajustate pentru a se incadra in acest interval cu HCl 1M sau NaOH 1M inainte de testare.

Falsificarea poate cauza rezultate eronate. In cazul in care se suspecteaza falsificarea probei, se obtine un esantion nou si ambele esantioane trebuie transmise la laborator.

Manipulati toate probele de urina ca si cum ar fi potential infectioase.

INSTRUMENTAR NECESAR

Analizoare de chimie clinica capabile sa mentina o temperatura constanta, sa pipeteze probe, omogenizare reactivi, vitezele de masurare a enzimelor la 340 nm si timpul precis de reactie pot fi utilizate pentru a efectua aceasta analiza imunologica omogena.

PROCEDURA

Analizoare cu specificatiile indicate mai sus sunt potrivite pentru realizarea acestui imunotest omogen enzimatic. Consultati parametrul specific folosit pentru fiecare analizor inainte de a efectua analiza. Parametrii tipici de testare utilizati pentru analizoarele includ un esantion la reactiv anticorp (R1) la reactiv conjugat enzimatic (R2) raport de 1:10:3,75, respectiv; o temperatura de incubare de 37°C, cadre de citire de 2-4 minute si o lungime de unda primara de 340 nm.

CALIBRARE

Pentru determinarile calitative, reactivul trebuie calibrat cu calibratorul de separare selectat. Pentru determinarile semi-cantitative, reactivul poate fi calibrat cu o curba de calibrare de 5 puncte.

Nivelurile de calibrare (ng / ml)		Nivelurile de control (ng / ml)
CALITATIV	Semicantitativ	
Low cut-off (200)	Nivel 0 (0)	Control - 25% (150) Control 25% (250)
	Nivel 1 (100)	
	Nivel 2 (200)	
	Nivel 3 (300)	
High cut-off (300)	Nivel 4 (1000)	Control - 25% (225) Control 25% (375)

INTERPRETARE

Pentru determinarile calitative, calibratorul cut-off (200 sau 300ng / mL) de benzodiazepina este utilizat ca referinta pentru diferentierea probelor pozitive fata de probele negative. O proba cu o modificare a absorbtiei (Δ mA / min) egala sau mai mare decat cea obtinuta cu calibratorul cut-off este considerata pozitiva. O proba cu o valoare a absorbtiei mai mica decat cea obtinuta cu calibratorul cut-off este considerata negativa. Pentru determinarile semi-cantitative, este necesara o curba de calibrare cu calibratori multipli. Concentratia de benzodiazepine din proba poate fi apoi estimata din curba de calibrare.

CONTROL DE CALITATE

Bunele practici de laborator recomanda folosirea probelor de control pentru a asigura o performanta adecvata a analizelor.

Curba de calibrare poate fi validata cu nivelurile de control 150 si 250 ng / ml sau niveluri 225 si 375 ng / mL sau cu controale comerciale.

LIMITARI

Un rezultat pozitiv al analizei indica numai prezenta benzodiazepinelor.

Rezultatele pozitive trebuie confirmate prin alte metode analitice afirmative (de exemplu, cromatografia) si de preferinta GC / MS.

Testul este destinat utilizarii doar cu urina umana.

PRECIZIA SI SENSIBILITATEA

Detalii privind studiile de precizie si sensibilitate sunt disponibile la cerere.

PRECIZIE

Au fost testate 52 de probe de urina dintr-o schema externa de asigurare a calitatii (UKNEQAS) folosind GC-MS. Rezultatele obtinute de la toate laboratoarele participante au fost medii pentru a da concentratia definitiva de medicament in esantion. Aceleasi 52 de probe au fost analizate utilizand EIA lichid si rezultatele au fost comparate.

13 probe au fost testate pozitiv de EIA lichid, iar aceleasi 13 probe au fost confirmate pozitive de catre GC-MS.

38 de probe au fost testate negative de EIA lichid, iar aceleasi 38 de probe au fost confirmate negative de catre GC-MS.

Un esantion a fost pozitiv pe testul de screening, dar negativ la confirmare. Donatorul in cauza a luat clonazepam care nu a fost cautat de metoda de confirmare. Acest lucru ar explica discrepanta rezultatelor.

SPECIFICITATE

Diferite substante potential interferente au fost testate pentru reactivitate incrucisata cu analiza. Compusii de testat au fost adaugati in matricea de calibrare a urinei fara medicamente la diferite concentratii si evaluate comparativ cu calibratorul cut-off (300ng / ml).

Este posibil ca alte substante si / sau factori care nu sunt enumerati mai jos sa interfereze cu testul si sa produca rezultate pozitive false.

Urmatorii compusi nu reactioneaza incrucisat la 100.000 ng / ml:

11-hidroxi-delta9-THC	EDDP
11-nor9-carboxi-delta9-THC	EMDP
6-Acetil-Morfina	Efedrina
Amitriptilina	Heroina
Amobarbital	LAAM
Amfetamina	MBDB
Aspirina	MDA
Benzoilecgonina	MDEA
β-feniletilamina	MDMA
Canabidiol	Metadona
Cocaina	Metamfetamina
Codeina	Morfina
Cotinina	Benzodiazepine
Delta9-THC	Paracetamolul
Dihidrocodeina	Pseudoefedrina
Ester metilic al ecgoninei	








Urmatoarele benzodiazepine vor produce un rezultat relativ pozitiv fata de cut-off 300ng / ml la urmatoarele concentratii:

Compus	Concentratia (ng / ml)
Alprazolam	300
Bromazepam	2000
Clordiazepoxid	300
Clobazam	2000
Clonazepam	300
Diazepam	300
Flunitrazepam	300
Flurazepam	300
Lormetrazepam	300
Lorazepam	300
Medazepam	300
Midazolam	400
Nitrazepam	300
Prezepam	300
Temazepam	300
Triazolam	300

BIBLIOGRAFIE

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, pp11970 (1988).*
3. *Rubenstein, K.E., R.S. Schneider, and E.F. Ullman, Homogeneous Enzyme Immunoassay: A New Immunochemical Technique, Biochem Biophys Res Commun, 47, 846 (1972).*
4. *The Forensic Pharmacology of Drugs of Abuse, Olaf Drummer. Arnold publication ISBN 034076257*

Simboluri

	Marcajul CE (Regulamentul 98/79 CE)
	dispozitiv medical in vitro
	Codul lotului
	Utilizati pana la
	Limitele temperaturii de depozitare
	Cititi instructiunile pentru utilizare
	Swiss Pharm Import-Export