

**Uso**

DRI® Benzodiazepine viene impiegato per la determinazione qualitativa o semi-quantitativa in vitro delle benzodiazepine nell'urina umana sui Sistemi per Chimica Clinica ILab Taurus.

**Questo saggio fornisce unicamente un risultato analitico preliminare. Utilizzare un metodo chimico alternativo più specifico a conferma del risultato analitico. La gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS) e la cromatografia liquida/spettrometria di massa (LC/MS) costituiscono i metodi di conferma d'elezione.<sup>1,2</sup> 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.**

**Sommario**

Le benzodiazepine sono farmaci d'abuso sedativo-ipnotici. Strutturalmente simili, comprendono una gamma di farmaci quali alprazolam, clordiazepossido, diazepam, lorazepam, oxazepam e triazolam. Vengono assorbite e metabolizzate a velocità diverse con vari effetti psicoattivi. Il rilevamento delle benzodiazepine o dei relativi metaboliti nell'urina può essere utilizzato come indicatore di abuso di tali sostanze.

**Principio**

DRI® Benzodiazepine è un saggio di rilevamento delle benzodiazepine immunoenzimatico in fase omogenea, liquido e pronto per l'uso.<sup>6</sup> Il saggio utilizza specifici anticorpi in grado di rilevare la maggioranza delle benzodiazepine e dei relativi metaboliti contenuti nell'urina. Il saggio si basa sulla concorrenza tra la droga marcata con un enzima Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi (G6PDH) e la droga contenuta nel campione di urina per un quantitativo determinato di siti di legame di uno specifico anticorpo. Se il campione non contiene droga libera, l'anticorpo specifico si lega alla droga marcata con la G6PDH 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 enzimatica del G6PDH viene determinata mediante spettrofotometria a 340 nm misurando la sua abilità di convertire il NAD (Nicotinammide Adenina Dinucleotide) in NADH.

**Configurazione**

[REF] W150039:	BENZ R1	2 x 50 mL
	BENZ R2	2 x 50 mL

**Composizione**

BENZ R1 contiene anticorpi anti-benzodiazepine, Glucosio-6-Fosfato (G6P), Nicotinammide Adenina Dinucleotide (NAD) in tampone Tris e meno dello 0.1% di Sodio Azide.

BENZ R2 contiene un derivato delle benzodiazepine marcato con Glucosio-6-Fosfato Deidrogenasi (G6PD) in tampone Tris e meno dello 0.1% di Sodio Azide.

**PRECAUZIONI E AVVERTENZE**

**BENZ R1 e BENZ R2** non sono classificati come pericolosi.

Fino al 2.2% della miscela di BENZ R1 e BENZ R2 è costituita da ingredienti la cui tossicità per la salute umana è ignota.

BENZ R1 e BENZ R2 contengono Sodio Azide che potrebbe formare Azidi esplosivi a contatto con le tubature metalliche. Non gettare i residui nelle fognature. Utilizzare procedure di smaltimento appropriate.

Questo prodotto è per uso diagnostico *in vitro*.

Saltare tutti i materiali utilizzati in contenitori adatti per rifiuti biologici.

**Preparazione**

I reagenti sono pronti all'uso. Porre i flaconi BENZ R1 e BENZ R2 nel piatto porta reagenti dello strumento.

**Conservazione e Stabilità**

I flaconi non aperti e conservati 2÷8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla scatola. I flaconi aperti, mantenuti a bordo dello strumento sono stabili 60 giorni. Per una stabilità ottimale, quando non in uso, rimuovere i reagenti dallo strumento e conservarli nei flaconi originali a 2÷8 °C.

**Procedura**

Per la procedura d'analisi fare riferimento alla tabella Instrument Settings allegata e al Manuale Operatore dello strumento.

**Raccolta e Preparazione dei Campioni**

Raccogliere i campioni di urina in recipienti di vetro o plastica. Si consiglia di analizzare campioni di urina freschi. Secondo le direttive finali riguardanti i programmi federali per i test antidroga negli ambiti professionali (*The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines: Notice*), i campioni non analizzati entro 7 giorni dal loro arrivo al laboratorio vanno conservati in frigoriferi di sicurezza.<sup>2</sup> I campioni con un pH da 3 a 11 sono idonei per essere analizzati con questo dosaggio. È necessario fare il possibile per mantenere i campioni pipettati privi di residui solidi. Si consiglia di centrifugare prima dell'analisi i campioni molto torbidi. L'adulterazione dei campioni di urina può dare luogo a risultati errati. Se si sospetta adulterazione, ottenere un altro campione e inviare entrambi i campioni al laboratorio per l'analisi. Manipolare tutti i campioni di urina come se fossero potenzialmente infettivi.

**Calibrazione**

Ricalibrare lo strumento ogni 30 giorni, al cambio di lotto di reagente o quando viene fatta manutenzione allo strumento. Non eseguire il bianco reagente per questo test.

**Analisi Semiquantitativa**

Per l'analisi semiquantitativa utilizzare tutti i calibratori.

[REF] W151664 / W151388	DRI® Negative Calibrator	10 mL / 25 mL
[REF] W151588 / W151589	DRI® MultiDrug Calibrator 1	10 mL / 25 mL
[REF] W151591 / W151592	DRI® MultiDrug Calibrator 2	10 mL / 25 mL
[REF] W151594 / W151595	DRI® MultiDrug Calibrator 3	10 mL / 25 mL
[REF] W151597 / W151598	DRI® MultiDrug Calibrator 4	10 mL / 25 mL

**Analisi Qualitativa**

Per l'analisi qualitativa dei campioni, usare il calibratore 200 ng/mL come livello di cut-off. Il DRI® MultiDrug Urine Calibrator 2 ([REF] W151591, [REF] W151592), che contiene 200 ng/mL di Oxazepam, è utilizzato come cut-off per discriminare i campioni "positivi" da quelli "negativi".

**Controllo di Qualità**

Ogni laboratorio dovrebbe stabilire le proprie medie e deviazione standard e adottare un programma di controllo di qualità per il monitoraggio delle prestazioni analitiche.

I controlli dovrebbero essere analizzati in accordo con la "buona pratica di laboratorio". Usare DRI® MGC Primary DAU Control Set ([REF] W15100200) almeno una volta al giorno. I valori target e gli intervalli attesi sono riportati nei relativi inserti. La media dell'intervallo del controllo determinata in ciascun laboratorio può variare in relazione al lotto di reagente usato. Si raccomanda che ciascun laboratorio stabilisca i propri Media, Deviazione Standard e Intervallo di Accettabilità basati sulla propria combinazione strumento/reagente. Se i risultati cadono al di fuori dell'intervallo stabilito il run deve essere scartato e la calibrazione ripetuta. Per identificare e risolvere le situazioni di valori di controllo fuori dai limiti consigliamo di far riferimento a Westgard *et al.*<sup>4</sup> Analizzare i controlli al cambio di bottiglia di reagente.

**Calcolo dei Risultati Analitici**

L'analizzatore ILab calcola automaticamente i risultati di ciascun campione. Per una descrizione dettagliata fare riferimento alla tabella Instrument Settings allegata e al Manuale Operatore dello strumento.

**Risultati Attesi****Risultati Semi-quantitativi**

Una stima approssimativa della concentrazione della sostanza psicotropa nei campioni può essere ottenuta eseguendo una curva standard con tutti i calibratori e quantificando i campioni dalla curva standard.

**Risultati Qualitativi**

Un campione in cui si rileva una variazione del valore di assorbanza ( $\Delta A$ ) uguale o superiore al valore ottenuto con il calibratore di cut-off è considerato positivo. Un campione che rilevi una variazione del valore di assorbanza ( $\Delta A$ ) inferiore al valore ottenuto con il calibratore di cutoff è considerato negativo.

**Limiti**

DRI® Benzodiazepine è stato progettato per essere usato in accordo alle procedure di Instrumentation Laboratory.

Un risultato positivo indica solo la presenza di benzodiazepine e non necessariamente correla con l'entità degli effetti fisiologici e psicologici.

Un risultato positivo ottenuto con questo metodo deve essere confermato con un altro metodo non immunologico quale GC, TLC, GC/MS o LC/MS.

Il test è studiato per essere utilizzato solo per analisi di campioni di urine.

È possibile che altre sostanze e/o fattori (tecnici e procedurali) non elencati nella tabella specificità possa interferire con il test e causare risultati falsamente positivi.



## ILab Taurus Prestazioni Analitiche

I dati tipici delle prestazioni analitiche sono stati ottenuti utilizzando l'analizzatore ILab Taurus. I risultati dei singoli laboratori possono variare da quelli sotto indicati. Le prestazioni di seguito sono state ottenute lavorando con un cut-off di 200 ng/mL.

### Precisione

Risultati tipici di precisione ottenuti secondo il protocollo NCCLS.<sup>5</sup>

Urine	Campioni/runs	Media (ng/mL)	CV (%)	Media (ng/mL)	CV (%)	Media (ng/mL)	CV (%)
Nel run	5/10	137	1.2	199	1.8	238	2.2
Totale	5/10	137	2.2	199	3.2	238	3.4

### Prestazioni Diagnostiche

146 campioni di urine sono stati analizzati con un metodo EIA commerciale e il kit DRI® Benzodiazepine.

È risultato un 100% di concordanza fra i due metodi. Settanta campioni sono risultati positivi e settantasei sono risultati negativi con entrambi i metodi. Inoltre i settanta campioni positivi sono stati confermati col metodo di conferma GC/MS.

Metodo di comparazione (x)	metodo EIA
Numero di campioni	146

		metodo EIA	
		+	-
DRI® Benzodiazepine	+	70	0
	-	0	76

I risultati riportati nella tabella di seguito si riferiscono all'analisi statistica dei 146 campioni confrontati con i risultati ottenuti col metodo di conferma (LC/MS o GC/MS).

N° di campioni	146
Cut-off (ng/mL)	200
Sensitività diagnostica (%)	100
Specificità diagnostica (%)	100
Valore predittivo negativo (%)	100

### Riferimenti

REF 00018464100 ILab Taurus Operator's Manual

### Bibliografia

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, pp 11970 (1988).
3. Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman: Homogeneous enzyme immunoassay: a new immunochemical technique. Biochem Biophys Res Commun 47:846-851 (1972).
4. Westgard J.O., and Barry P.L., Cost Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes, AACC Press, Washington, D.C., 1986.
5. Document EP3-T: "Guidelines for Manufacturers for Establishing Performance Claims for Clinical Chemical Methods, Replication Experiment Evaluation", National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA, 1982.

quantILab® is a trademark of Instrumentation Laboratory SpA - A Werfen Company.

DRI® is a trademark of Microgenics-Thermo Fisher.

W150039\_Taurus\_IT R1 02/2017

## ILab Taurus Prestazioni Analitiche

### Specificità Analitica

Alcuni composti benzodiazepinici e i relativi metaboliti sono stati analizzati per la reattività crociata con il dosaggio. La tabella seguente elenca le concentrazioni dei composti che hanno dato luogo a risultati positivi.

Concentrazioni di composti testati che hanno prodotto un risultato positivo rispetto al calibratore cutoff:

Composto	Concentrazione cutoff, ng/mL
Alprazolam	85
7-Aminoclonazepam	2 500
Bromazepam	170
Clordiazepossido	750
Clobazam	110
Clonazepam	150
Clorazepato	85
Delorazepam	110
Desmetildiazepam	75
Diazepam	70
Flunitrazepam	95
Flurazepam	100
Lorazepam	650
Lormetazepam	225
Medazepam	170
Nitrazepam	100
Norfludiazepam	85
Prazepam	95
Temazepam	115
Triazolam	90

Concentrazioni dei composti testati che hanno prodotto un risultato negativo rispetto al calibratore cutoff:

Composto	Concentrazione cutoff, ng/mL
Acido acetilsalicilico	1 000
Anfetamina	1 000
Caffeina	100
Codeina	1 000
Destrometorfano	1 000
Difenidramina	500
Fenciclidina (PCP)	1 000
Fluoxetina	500
Metadone	1 000
Morfina	200
Norfluoxetina	500
Norsertalina	1 000
Oxaprozina	50
Paracetamolo	1 000
Paroxetina	500
Propossifene	1 000
Secobarbital	1 000
Sertralina	500

**Limite Minimo di Rilevabilità:** 3 ng/mL



## ILab Taurus Instrument Settings

Photometric Test Parameters		Urine
Test n°		**
Test Name, Test Code		Benzodiazepine, Benzo
Sample Type		Urine
Reporting Unit, Decimal Points		ng/mL, (0)
Reaction Cycle		Standard
Twin Analysis		OFF
Methodology Type, Measuring Point		Rate, 20/27
Photometric Methodology		2 Wavelength
Primary/Secondary Wavelength		340/405
Slope/Intercept correction		1/0
Sampling Conditions		
Sampling 1	Sample Vol.	5
	Sample/Diluent Vol.	0/0
Sampling 2	Sample Vol.	0
	Sample/Diluent Vol.	0/0
Sampling 3	Sample Vol.	0
	Sample/Diluent Vol.	0/0
Sampling 4	Sample Vol.	0
	Sample/Diluent Vol.	0/0
Diluent Code		N/A
Diluent Warning Limit		**
First Run		Sampling 1
Below/Above Normal Range		***
Panic L		***
Panic H		***
Noise		***
Prozone		N/A
HIGH!, ABS		***
Sample Volume Reduction		**
Reagent Volumes		
R1	Code	01431
	Rgt/Dil. Vol., Stirring	100/0, ON
	Low Vol. Warning Limit	***
	Stability (days)	60
R2	Code	01432
	Rgt/Dil. Vol., Stirring	100/0, ON
	Low Vol. Warning Limit	***
	Stability (days)	60
Ranges and Evaluation Criteria		
Normal Range-Male		0 ÷ 200
Normal Range-Female		0 ÷ 200
Normal Range-Other		0 ÷ 200
User Range		**
Valid Range		-100 ÷ 1000
Hemolysis/Ictericus/Lipemia Limit		N/A
Reaction Slope		Positive
Absorbance Limit		Above, 3500
Prozone Limit		N/A
Non Linear Limit		0
Qualitative Report		OFF
Calibration Conditions		
Calibration		Multi Point, P to P, 3 Reps
Stability (days)		30
Calibration, Concentration		0, 100, 200, 500, 1000
R-Blank Limit (mABS)		3500
Cal. Reps Range (%)		50**
Min. Cal. Response (mAbs)		0
Cal. Factor Change (%)		50**
M-Point Curve Fit (%)		0
Reagent Blank		OFF
Auto R-Blank by Bottle		OFF
Ask for cal when reagent lot changes		ON

\* Lot dependent

\*\* Operator definable

\*\*\* Optional

N/A Not applicable

quantILab® is a trademark of Instrumentation Laboratory SpA - A Werfen Company.

DRI® is a trademark of Microgenics-Thermo Fisher.

W150039\_Taurus\_IT R1 02/2017

