

# SureStep™ BZO

**Monofase Card per Test di Benzodiazepine (Urina) Metodica Italiana**

Test monofase per la determinazione qualitativa delle Benzodiazepine nell'urina umana. Solo per uso medicale e uso diagnostico professionale in vitro.

## USO PREVISTO

La card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) è un test rapido immunocromatografico a flusso laterale per la determinazione delle Benzodiazepine nell'urina umana ad una concentrazione cut-off pari a 300 ng/ml. Questo test è in grado di determinare altre sostanze correlate, come indicato nella tabella di specificità analitica presente in queste istruzioni.

Questo test fornisce unicamente dei dati analitici preliminari. Metodi chimici più specifici devono essere utilizzati come conferma del risultato analitico. Sono considerati metodi di conferma preferenziali la gas cromatografia e la spettrometria di massa (GC/MS). Ogni risultato per la determinazione della presenza di droghe d'abuso deve essere correlato a considerazioni cliniche e ad un giudizio professionale, particolarmente quando il risultato preliminare è di positività.

## RIEPILOGO

Le Benzodiazepine sono medicinali frequentemente prescritti per il trattamento sintomatico dell'ansietà e dei disturbi del sonno. Producono il loro effetto tramite specifici recettori che coinvolgono una sostanza neurochimica chiamata acido gamma-buttirico (GABA). Dato che le Benzodiazepine sono maggiormente sicure e più efficaci dei Barbiturati, li hanno sostituiti nel trattamento dell'ansietà e dell'insonnia. Le Benzodiazepine sono utilizzate anche come sedativo prima di alcuni interventi chirurgici o di medicazioni, nonché per il trattamento di alcuni disturbi ad attacchi e per l'astinenza da alcool. Una somministrazione regolare (es. giornaliera) di Benzodiazepine, per più di alcuni mesi e soprattutto a dosi più elevate del normale, aumenta il rischio di dipendenza fisica. L'interruzione della somministrazione può portare a sintomi come problemi del sonno, disturbi gastrointestinali, malessere generale, perdita di appetito, sudorazione, tremore, spossatezza, ansietà e modifica delle percezioni. Solo una minima parte delle Benzodiazepine (meno dell'1%) vengono eliminate inalterate nelle urine; la maggior parte della concentrazione nelle urine è presente come farmaco coniugato. Il periodo entro cui è possibile determinare le Benzodiazepine nelle urine è compreso tra 3-7 giorni.

La card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) è un test di screening rapido su urina che può essere eseguito senza uso di strumentazione. Il test utilizza un anticorpo per la determinazione selettiva di elevati livelli di Benzodiazepina nelle urine. La card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) produce un risultato positivo quando la concentrazione di Benzodiazepine è superiore al livello di rilevabile.

## PRINCIPIO

La card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) è un test rapido immunocromatografico basato sul principio del legame competitivo. La droga che potrebbe essere presente nel campione di urina compete con il coniugato per i medesimi siti di legame dell'anticorpo.

Durante il test un campione di urina migra per capillarità lungo la membrana. Le Benzodiazepine, se presenti nel campione di urina, a concentrazione inferiore al livello cut-off, non saranno in grado di saturare tutti i siti di legame delle particelle legate agli anticorpi presenti nella strip. Le particelle legate agli anticorpi verranno catturate dal coniugato immobilizzato e una banda colorata visibile comparirà nella zona della banda del test. La banda colorata non si formerà nella relativa area se il livello delle Benzodiazepine sarà superiore al livello cut-off, in quanto tutti i siti di legame degli anticorpi anti Benzodiazepine verranno saturati.

Un campione di urina positivo alla droga in esame non causerà la formazione della banda colorata, mentre un campione di urina negativo alla droga in esame o un campione contenente una concentrazione della droga inferiore al cut-off causerà la formazione della banda colorata nella specifica zona del test. Come controllo della procedura, comparirà una banda colorata nella zona relativa, indicando che è stata utilizzata una quantità corretta di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta.

## REAGENTI

La membrana della card contiene anticorpi monoclonali di topo anti Benzodiazepine legati alle particelle e coniugato di proteina delle Benzodiazepine. Anticorpi di capra sono utilizzati per la banda di controllo.

## PRECAUZIONI

- Solo per uso medicale e uso diagnostico professionale *in vitro*. Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- Conservare la card nell'involucro chiuso fino al momento dell'uso.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e, pertanto, vanno manipolati con le precauzioni d'uso relative ai prodotti potenzialmente infettivi.
- Dopo l'uso, la card deve essere eliminata secondo le norme locali in vigore.

## CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare nell'involucro chiuso ad una temperatura compresa tra i 2° e i 30°C. La card è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta dell'involucro. La card deve essere conservata nell'involucro chiuso fino al momento dell'uso. **NON CONGELARE.** Non utilizzare oltre la data di scadenza.

## PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

### Urina

Raccogliere il campione di urina in un contenitore pulito ed asciutto. Possono essere utilizzati campioni di urina raccolti in qualunque momento della giornata. I campioni di urina con evidente presenza di precipitato devono essere centrifugati, filtrati o lasciati depositare in modo da ottenere un campione limpido su cui effettuare il test.

### Conservazione dei Campioni

I campioni di urina possono essere conservati ad una temperatura di 2-8°C al massimo per 48 ore. Per una conservazione prolungata, è possibile congelare i campioni e conservarli ad una temperatura inferiore ai -20°C. Prima di utilizzare campioni congelati è necessario farli scongelare ed omogeneizzarli accuratamente.

## COMPOSIZIONE DELLA CONFEZIONE

### Materiale Fornito

- Card
- Contagocce
- Metodica

### Materiale Necessario Ma Non Fornito

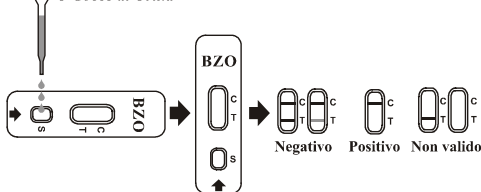
- Contenitori per la raccolta dei campioni
- Timer

## PROCEDURA

Prima di eseguire il test, portare a temperatura ambiente (15-30°C) la card, il campione di urina e i controlli.

- Prima di aprire l'involucro, portarlo a temperatura ambiente. Estrarre la card dall'involucro e utilizzarla la prima possibile.
- Appoggiare la card su una superficie pulita e piana. Tenere il contagocce verticalmente e dispensare 3 gocce di urina (circa 100 µl) nel pozzetto del campione (S) della card e far partire il timer. Evitare di inglobare bolle d'aria nel pozzetto del campione (S). Vedi illustrazione sottostante.
- Attendere che compaia/compaiano la/e banda/e rossa/e. Leggere il risultato dopo 5 minuti. Non interpretare il risultato dopo 10 minuti.

3 Gocce di Urina



## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

(Vedere l'illustrazione precedente)

**NEGATIVO:**\* Compaiono due bande. Una banda rossa si trova nella zona di controllo (C), l'altra rossa o rosa nella zona reattiva (T). Il risultato negativo indica che la concentrazione di Benzodiazepine è al di sotto del livello rilevabile.

\*NOTA: La tonalità di rosso nella zona reattiva (T) può variare, ma deve essere considerata negativa ogni qualvolta si presenta una debole banda rosa.

**POSITIVO:** Compare una banda rossa nella zona di controllo (C). Nella zona reattiva (T) non appare nessuna banda. Il risultato positivo indica che la concentrazione di Benzodiazepine è superiore al livello rilevabile.

**NON VALIDO:** Non compare la banda di controllo. Le cause più plausibili per la mancata comparsa della banda di controllo possono essere un volume di campione insufficiente o procedimento analitico errato. Ricontrollare il procedimento e ripetere il test utilizzando una nuova card reattiva. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'uso del kit e rivolgersi al distributore locale.

## CONTROLLO DI QUALITÀ

Il test include un sistema di controllo interno costituito dalla banda rossa che compare nella zona di controllo (C). La comparsa di questa banda conferma che il test è stato eseguito correttamente con un volume di campione sufficiente, che l'assorbimento della membrana è risultato adeguato e la procedura corretta. Controlli standard non sono forniti con il kit; in ogni modo si raccomanda di testare controlli positivi e negativi, come buona pratica di laboratorio, per confermare la procedura del test e verificarne le corrette caratteristiche.

## LIMITI

- La card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) fornisce un risultato qualitativo da considerare preliminare. Un secondo metodo analitico deve essere utilizzato per confermare il dato. Sono considerati metodi di conferma preferenziali la gas cromatografia e spettrometria di massa (GC/MS).
- E' possibile che errori tecnici o procedurali, così come sostanze interferenti presenti nel campione di urina, possano causare risultati errati.
- E' possibile che sostanze adulteranti, quali candeggina e/o allume, presenti nel campione di urina, possano causare risultati errati, a prescindere dal metodo analitico utilizzato. Se si sospetta la presenza di tali sostanze, il test deve essere ripetuto con un altro campione di urina.
- Un risultato positivo indica la presenza della droga o dei suoi metaboliti ma non il livello di intossicazione, la via di somministrazione o la concentrazione nell'urina.
- Un risultato negativo non significa necessariamente che il campione di urina sia privo di droga. Un risultato negativo si può ottenere quando la droga è presente ma a concentrazione inferiore al livello di cut-off del test.
- Il test non è in grado di distinguere tra la droga ed un medicinale contenente la medesima sostanza.

## PERFORMANCE

### Accuratezza

E' stata effettuata una valutazione comparativa tra la card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) ed un altro test rapido di riferimento in commercio. La valutazione è stata eseguita su 298 campioni preventivamente raccolti da soggetti sottoposti ad un test di screening. Il 10% dei campioni utilizzati si trovava a valori compresi tra -25% e +25% rispetto alla concentrazione cut-off pari a 300 ng/ml di Oxazepam. Risultati presunti positivi sono stati confermati da GC/MS. I risultati sono espressi nella seguente tabella:

Metodo	Test Rapido di Riferimento		Risultati Totali
	Positivi	Negativi	
Test monofase BZO (Urina)	130	5	135
Card	14	149	163
<b>Risultati Totali</b>	<b>144</b>	<b>154</b>	<b>298</b>
<b>% Correlazione</b>	<b>90%</b>	<b>97%</b>	<b>94%</b>

I risultati ottenuti nella comparazione con GC/MS ad un livello cut-off di 300 ng/ml sono mostrati nella seguente tabella:

Metodo	GC/MS		Risultati Totali
	Positivi	Negativi	
Test monofase BZO (Urina)	130	6	136
Card	5	159	164
<b>Risultati Totali</b>	<b>135</b>	<b>165</b>	<b>300</b>
<b>% Correlazione</b>	<b>96%</b>	<b>96%</b>	<b>96%</b>

### Sensibilità Analitica

Ad un pool di urine prive di droga è stato aggiunto Oxazepam alle seguenti concentrazioni: 0 ng/ml, 150 ng/ml, 225 ng/ml, 300 ng/ml, 375 ng/ml e 450 ng/ml. I risultati hanno mostrato un'accuratezza >99% su campioni al 50% superiori ed al 50% inferiori alla concentrazione cut-off. I dati sono riassunti qui di seguito:

Concentrazione di Oxazepam (ng/ml)	Percentuale Cut-off	n	Risultati Visivi	
			Negativi	Positivi
0	0	30	30	0
150	-50%	30	30	0
225	-25%	30	26	4
300	Cut-off	30	12	18
375	+25%	30	3	27
450	+50%	30	0	30

### Specificità Analitica

La seguente tabella elenca le sostanze che sono state identificate positive di la card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) in 5 minuti.

Sostanza	Concentrazione (ng/ml)	Sostanza	Concentrazione (ng/ml)
Alprazolam	196	Estazolam	2.500
a-Idrossiprazolam	1.262	Flumitrazepam	390
Bromazepam	1.562	(±) Lorazepam	1.562
Clordiazepossido	1.562	RS-Lorazepam glucuronide	156
Clobazam	98	Midazolam	12.500
Clonazepam	781	Nitrazepam	98
Clorazepato Potassio Dibasico	195	Norclordiazepossido	195
Delorazepam	1.562	Nordiazepam	390
Desalkilflurazepam	390	Oxazepam	300
Diazepam	195	Temazepam	98
		Triazolam	2.500

### Precisione

E' stato effettuato uno studio presso tre studi medici, da personale non addestrato, utilizzando tre diversi lotti di prodotto per determinare la precisione inter-seduta, intra-seduta e dell'operatore. Ad ogni studio medico è stato fornito un identico pannello di campioni codificati contenenti, secondo GC/MS, niente Oxazepam, Oxazepam superiore ed inferiore del 25% al cut-off ed Oxazepam superiore ed inferiore del 50% al cut-off di 300 ng/ml. I risultati sono indicati di seguito:

Concentrazione di Oxazepam (ng/ml)	n per Studio	Studio A		Studio B		Studio C	
		+	-	+	-	+	-
0	15	15	0	15	0	15	0
150	15	14	1	14	1	15	0
225	15	11	4	14	1	14	1
375	15	0	15	1	14	3	12
450	15	0	15	0	15	0	15

### Effetto di Una Specifica Densità Delle Urine

A quindici campioni di urina con densità normale, alta e bassa sono stati aggiunti 150 ng/ml e 450 ng/ml di Oxazepam. La card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) è stato provato in duplicato utilizzando i quindici campioni. I risultati dimostrano che diversi livelli di densità dell'urina non interferiscono con il risultato del test.

### Effetto del pH Urinario

Il pH di un pool di urine negative aliate è stato aggiustato per ottenere diversi livelli di pH, compresi tra 5 e 9 con un incremento di 1 unità di pH ed è stato aggiunto Oxazepam in concentrazione da 150 ng/ml a 450 ng/ml. L'urina così addizionata e con il pH modificato è stata testata in duplicato con la card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina). I risultati dimostrano che diversi livelli di pH urinario non interferiscono con il risultato del test.

### Cross-Reattività

E' stato effettuato uno studio per determinare la cross-reattività del test con alcune sostanze sia in urine prive di droga che in urine positive all'Oxazepam. Le seguenti sostanze non hanno presentato alcuna cross-reattività se testate con la card per il test di Benzodiazepine BZO monofase (Urina) ad una concentrazione di 100 µg/ml.

### Sostanze non Cross-Reattive

Acetaminofene	Clonidina	Idrocordone	Penicillina-G
Acetofenetidina	Cocaeilene	Idrocortisone	Pentazocina
N-Acetilprocainamide	Cocaina	p-Idrossiamfetamina	Penobarbital
Acido Acetilsalicilico	Codeina	p-Isoxamfetamina	Perfenazina
Acido L-Ascorbico	Cortisone	3-Idrossitiramina	Prednisolone
Acido Benzilico	(-) Cotinina	Imipramina	Prednisone
Acido Benzoico	Creatinina	Iproniadide	Procaina
Acido Gentisico	Deossicorticosterone	(±) - Isoproterenolo	Propiazina
Acido Nalidissico	Destrometorfano	Iosossuprina	Prometazina
Acido Oxalidipirruico	Diclofenac	Ketamina	D,L-Proporanolo
Acido Ossalico	Diflunisal	Ketoprofene	D-Proprissene
Acido Oxalimico	Digossina	Labetalolo	D-Pseudoedrina
Acido Salicilico	Difenidramina	Loperamide	Quinacrina
Acido Urico	Dossilamina	Maprotilina	Quinidina
Aminopirina	Egonina	MDE	Quinina
Amitriptilina	Egonina Metilestere	Meperidina	Ranitidina
Amobarbital	(-) - ψ - Efedrina	Meprobamato	Scobarbital
Amoxicillina	[1R,2S] (-) Efedrina	Metadone	Serotonina
Ampicillina	Emoglobina	L-Metamfetamina	Sulfametazina
D,L-Amfetamina solfato	(L) - Epinefrina	Metosifenamina	Sulindac
Apomorfina	Eritromicina	(±) - 3,4-Metilenodiossiamfetamina	Tetraciclina
Aspartame	β-Estradiolo	(±) - 3,4-Metilenodiossi metamfetamina	Tetraidrocortisone, 3-acetato
Atropina	Estrone-3-sulfato		Tetraidrocortisone 3-(β-D-glucuronide)
Benzolecogonina	Etil-p-aminobenzato		Tetraidrocortisone 3-(β-D-glucuronide)
Benzétamina	Fenoprofen		Tetraidrolina
Bilirubina	Feniclidina		Naloxone
(±) - Bromfeniramina	Trans-2-fenilciclopropilamina		Naltrexone
Caffeina	Cloridrato		Norpoxene
Cannabidiolo	Fenelzina		Niacinamide
Cannabinolo	L-Fenilefrina		Nidèpina
Cloralidrato	β-Feniletanamina		Norcodina
Cloramfenicolo	Fenilpropolanamina		Noretindrone
Clorotiazide	Fenobarbital		D-Norpropiossifene
(±) - Clorfeniramina	Fentermina		Noscapina
Clorpromazina	Furosemide		D,L-Octopamina
Clorquina	Ibuprofen		Ossidometazolina
Coletsterolo	Idralazina		Papaverina
Clomipramina	Idrocortiazide		Papaverina

## BIBLIOGRAFIA

- Baselt RC. *Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man*. 2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA, 1982: 488.
- Hawks RL, CN Chiang. *Urine Testing for Drugs of Abuse*. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986.

### Indice dei Simboli

	Attenzione, consultare le istruzioni per l'uso		N° determinazioni per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Usare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero del lotto		Codice #



**Innovacon, Inc.**  
4106 Sorrento Valley Boulevard  
San Diego, CA 92121, USA



**EC REP**  
MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Germany

Numero: 1155826601  
Data: 2006-xx-xx