


Automation for TARGA BT 2000™ CANNABINOIDS (THC)

REF	IVD	REAGENTS	
101904200BT	48 ml 1x218 test	R1:2x16.9 ml R2:2x8 ml	
Test Automation : TARGA BT 200/3000			210

1.0 SOMMARIO

Test immunoenzimatico (EIA) omogeneo per la determinazione qualitativa e semiquantitativa dei cannabinoidi nell'urina umana con analizzatori automatici. Solo ad uso diagnostico *in vitro*. Il test fornisce soltanto un risultato analitico preliminare. Per ottenere una conferma di tale risultato, è necessario utilizzare un metodo chimico alternativo più specifico. La gas cromatografia/spettrometria di massa (GC/MS) è il metodo di conferma più indicato. I risultati di ogni test tossicologico devono essere sottoposti a valutazioni cliniche e giudizi professionali, in modo particolare in presenza di risultati preliminari positivi.

La marijuana e l'hashish sono estratti dalla pianta da canapa *Cannabis sativa*, presente in ogni continente. 2,3 Queste droghe contengono almeno 61 cannabinoidi (una classe di sostanze chimiche tipiche della cannabis), di cui il $\Delta 9$ -tetraidrocannabinolo (THC) è il composto psicoattivo primario. Il THC ha un leggero effetto sedativo e ipnotico che può provocare euforia, alterazioni sensoriali e percettive e, ad alte dosi, persino allucinazioni. Il THC è altamente iposolubile e di conseguenza si deposita immediatamente sui tessuti adiposi, dove permane per diversi giorni o settimane. È rapidamente trasformato dagli enzimi del fegato in più di 24 metaboliti, di cui quello primario è l'11-nor- $\Delta 9$ -tetraidrocannabinolo-9-acido carbossilico. Circa il 70% di una dose di THC viene escreta nelle feci e nelle urine entro 72 ore dall'assunzione. 4 Le concentrazioni di metaboliti THC nelle urine dipendono da vari fattori: frequenza delle assunzioni, periodo di raccolta dei campioni di urina in rapporto all'ultima esposizione al THC e tasso di rilascio dei cannabinoidi accumulatisi sui tessuti adiposi. 5 I consumatori cronici di alte dosi di THC che interrompono l'assunzione di tale sostanza possono risultare positivi ai test delle urine anche dopo un mese o più. 2, 5

2.0 PRINCIPIO

Il test è basato sull'enzima batterico glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) per un aumento fisso di anticorpi nel reagente. L'attività dell'enzima diminuisce legandosi all'anticorpo e la concentrazione della droga nel campione viene misurata in funzione dell'attività dell'enzima. In assenza di droga nel campione, l'enzima G6PDH marcato con morfina si lega all'anticorpo inibendone l'attività. Diversamente quando la droga è presente nel campione, l'anticorpo si lega alla droga libera. In questa condizione l'enzima G6PDH marcato con morfina coniugata presenta la massima attività enzimatica. L'enzima attivo rimanente converte nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) ad NADH, dandone come risultato una variazione di assorbanza che può essere misurata a 340nm.

3.0 CAMPIONE

Raccogliere i campioni di urina in contenitori di vetro o plastica puliti. Centrifugare i campioni ad elevata turbidità prima di eseguire il test. Trattare l'urina umana come materiale potenzialmente infettivo. Utilizzare un altro campione se si sospetta l'adulterazione di quello a disposizione. L'adulterazione dei campioni di urina può determinare risultati erronei. I campioni sono conservabili a una temperatura compresa tra 15 e 25 °C per un massimo di 7 giorni. Trascorso questo periodo di tempo, è consigliabile mantenerli a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. 12 Se necessario, applicare le procedure della catena di custodia. 13

4.0 VALORI DI RIFERIMENTO

Procedura qualitativa. I risultati devono essere sempre negativi rispetto al cut-off scelto (20, 50 o 100ng/mL).
Procedura semi-quantitativa. È necessaria una curva di calibrazione con calibratori multipli. La concentrazione del metabolita della cocaina nel campione viene stimata dalla curva di calibrazione.

5.0 REAGENTI

Solo per uso diagnostico *in vitro*. I componenti del kit, conservati a 2-8 °C, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulla confezione. Conservare al riparo da luce diretta.

R1	Anticorpi monoclonali di topo reattivi alla benzoilmetilecgonina, glucosio-6-phosphate (G6P), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), Sali tampone, stabilizzatore e conservante.
R2	Glucosio-6-phosphate deidrogenasi (G6PDH) Marcato con benzoilmetilecgonina, Soluzione tampone di piperazina-N,N-bis [acido 2-etanosolfonico], sali tampone e conservante.

6.0 PREPARAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti sono pronti all'uso e vanno installati tal quale nello strumento. I reagenti sono stabili fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta, se conservati chiusi a 15-25°C, evitando contaminazioni durante il loro utilizzo. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.

7.0 PRECAUZIONI

I reagenti contengono componenti inattivi, quali i conservanti (Sodio Azide o altri), tensioattivi ecc. La concentrazione totale di questi componenti è inferiore ai limiti riportati dalle direttive CEE 67/548/EEC e 88/379/EEC sulla classificazione, confezionamento ed etichettatura delle sostanze pericolose. Tuttavia i reagenti vanno trattati con cautela. Evitare di inghiottire, evitare il contatto con la pelle, con gli occhi e le membrane mucose. I reagenti ottenuti da donatori umani sono risultati negativi a anti-HIV 1/2, anti-HCV 1/2 e HBsAg. Si raccomanda comunque di utilizzarli con cautela. Nell'utilizzo dei reagenti di laboratorio si raccomanda di seguire le norme di buona pratica di laboratorio.⁽¹²⁾

8.0 MATERIALI NECESSARI NON FORNITI

Normale strumentazione da laboratorio. Spettrofotometro UV/VIS munito di termostatazione. Micropipette automatiche. Cuvette in vetro ottico o monouso in polistirolo ottico. Soluzione fisiologica

9.0 PROCEDIMENTO AUTOMAZIONE

Gli analizzatori con le specifiche indicate di seguito sono adatti ad eseguire questo test enzimatico omogeneo. Fare riferimento ai parametri specifici di ogni analizzatore prima di effettuare il test. I parametri tipici da utilizzare per ogni analizzatore includono :
rapporto tra R1 (anticorpo) e R2 (enzima coniugato)..... 1:10:3.75
Temperatura di incubazione 37 °C,
tempo di lettura 2-4 min.
lunghezza d'onda primaria 340nm
lo strumento a 540 nm.

9.1 PROCEDURA ANALITICA - TARGA™ BT 2000/3000 SYSTEMS

Per le procedure automatiche consultare il manuale d'uso e le note applicative dell'analizzatore Targa. Tutte le applicazioni non esplicitamente approvate da MeDia diagnostici, non possono essere garantite in termini di prestazioni e dovranno pertanto essere valutate dall'utilizzatore.

Method.....	E. P 2 POINTS
Starter serum	NOT APPLICABLE
Filter A/B.....	340
Unit.....	ng/ml
Type of process	LOG-LOGIT5
Principle	EIA
Washing n.(cleaner)	
Delay time (sec).....	2
Incubation time (sec)	10/10
Reading time (sec)	120

Test limit (conc)	**
Reaction limit (mABS)	1.200
Max delta ABS (mABS)	1.000
Reagent limit (mABS)	300
Reagent A/B (ul)	160/60
Reaction direction	INCREASE
Dilution	1:1
Initial ABS (mABS)	0.00
Curve acceptance	100%
Automatic profile	NOT APPLICABLE
Pathological repetition.....	ACTIVE
Serum parameters	
Test name	THC *
Sample volume (ul)	12 ***
Dilution ratio	1:2
Min.Max.M.	**/**
Min.Max.F.	**/**
Min.Max.B.	**/**
urine parameters	
Test name	THC
Urine volume (ul)	12 ***
Auto dilution	1:2
Min.Max.M.	**/**
Min.Max.F.	**/**
Min.Max.B.	**/**
Multi factor	**/**
Units factor	**/**

* Introdurre i valori di calibrazione nella pagina di calibrazione

** Dati inseriti dall'operatore

*** Ad eccezione di Oxidodone e Oppiacei = 3µl e tutte le altre DOA = 16µl

11.0 CALIBRAZIONE

Per le determinazioni qualitative, il reagente deve essere calibrato con il calibratore cut-off scelto. Per le determinazioni semi-quantitative, il reagente può essere calibrato con una curva a 5 punti.

Calibratori livelli (ng/mL)		Controlli livelli (ng/mL)
QUALITATIVO	SEMI-QUANTITATIVO	
Cut-off basso (20)	Level 0 (0)	Control - 25% (15) Control + 25% (25)
	Level 1 (20)	
	Level 2 (50)	
	Level 3 (100)	
Cut-off alto (50)	Level 4 (200)	Control - 25% (37,5) Control + 25% (67,5)

Il reagente dovrebbe essere calibrato mensilmente, quando i controlli sono fuori range (vedere informazioni sul controllo qualità punto 12.0 successivo) e quando cambia il lotto o il settaggio del protocollo applicativo.

12.0 CONTROLLO DI QUALITA'

La buona prassi di laboratorio raccomanda di usare campioni di controllo per assicurare una corretta esecuzione del test. La curva di calibrazione può essere validata con i livelli 15 e 25 ng/ml o i livelli 37,5 e 62,5 ng/ml, oppure con altri controlli reperibili sul mercato della diagnostica di laboratorio.

MeDia

diagnostici
If You need to be sure !

3.0 PRESTAZIONI DEL TEST

13.1 Precisione . I dati seguenti sono stati ottenuti in conformità con lo standard EP5 (NCCLS) , il reagente è stato testato per 20 giorni misurando ogni livello in duplicato due volte a giorno (n=80).

Test qualitativo :

	CV (%)		
Mean (ng/mL)	14.5	18.7	22.2
Total	7.2%	7.1%	5.3%
Within Run	6.0%	3.7%	2.9%
Between Run	1.7%	3.7%	4.1%
Between Day	3.6%	4.8%	1.7%
Mean (mAU/min)	358.6	364	368.9
Total	1.1%	1.1%	1.2%
Within Run	0.3%	0.3%	0.3%
Between Run	0.7%	0.8%	0.8%
Between Day	0.8%	0.7%	0.7%

	CV (%)		
Mean (ng/mL)	28.4	44.5	60.8
Total	7.7%	5.2%	3.3%
Within Run	4.2%	2.7%	1.5%
Between Run	4.8%	3.3%	1.4%
Between Day	4.3%	2.9%	2.6%
Mean (mAU/min)	387.6	407.3	435
Total	1.4%	1.5%	1.4%
Within Run	0.4%	0.5%	0.4%
Between Run	1.0%	1.1%	0.8%
Between Day	0.8%	0.8%	1.1%

	CV (%)		
Mean (ng/mL)	67.8	88.2	109.8
Total	4.4%	8.6%	9.4%
Within Run	2.6%	4%	4%
Between Run	2.7%	5.6%	5.6%
Between Day	2.4%	5.1%	5.1%
Mean (mAU/min)	447	466.2	476.3
Total	1.5%	1.4%	1.2%
Within Run	0.5%	0.4%	0.4%
Between Run	1.1%	1.1%	0.9%
Between Day	0.9%	0.8%	0.8%

13.2 Correlazione. 51 campioni di urina reperiti da un ciclo di valutazione esterna di qualità (UKNEQAS) sono stati testati con questo kit. I risultati medi di tutti i laboratori partecipanti sono stati utilizzati come valore di riferimento. 10 campioni sono risultati positivi al test con il kit MeDia diagnostici e confermati da 21 campioni della media dei laboratori.

Gli altri 41 campioni risultati negativi al test con il kit MeDia diagnostici sono stati confermati dal test di comparazione .

13.2 Interferenze. Le seguenti sostanze sono state trovate non reattive alla concentrazione di 100 ng/mL :

6-Acetyl-Morphine	EDDP
Amitriptyline	EMDP
Amobarbital	Ephedrine
Amphetamine	Heroin
Aspirin	LAAM
Benzoylcegonine	MBDB
β-phenylethylamine	MDA
Cannabidiol	MDEA
Chlorpheniramine	MDMA
Cocaine	Methadone
Codeine	Morphine
Cotinine	Oxycodone
Diazepam	Paracetamol
Dihydrocodeine	Pseudoephedrine
Ecgonine Methyl Ester	Temazepam

I seguenti derivati producono una risposta positiva con il cut-off a 300ng/mL alle seguenti concentrazioni :

Sostanza	Concentrazione (ng/mL)
6-acetyl-morphine	1,000
Codeine	1,000
Dihydrocodeine	1,000
Heroin	1,000
Oxycodone	100,000










15.0 CONSIDERAZIONI SULLO SMALTIMENTO

Il prodotto è destinato all'utilizzo all'interno di laboratori di analisi professionali. Per un corretto smaltimento dei rifiuti, fare riferimento alla normativa vigente. S56:smaltire questo materiale e relativi contenitori in un punto di raccolta rifiuti pericolosi o speciali autorizzati. S57:usare contenitori adeguati per evitare l'inquinamento ambientale. S61:non disperdere nell'ambiente. Riferirsi alle istruzioni speciali/schede informative in materia di sicurezza.

16.0 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, pp11970 (1988)
3. Marilyn A Huestics, "Marijuana", in Contemporary Practice in Clinical Toxicology, 2nd edition, Leslie M. Shaw, editor-in-chief. AACCC, 2000.
4. Nahas, G.G., Cannabis: Toxicological Properties and Epidemiological Aspects, Med J. Aust., 145:82 (1986)
5. Baselt, R.C.and R.H. Cravey, Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, 3rd Edition, pp. 780-783, Chicago, IL. Year Book Medical Publishers Inc. 1990.
6. Wall, M.E., D.R. Brine and M. Peres-Reyes, Metabolism of Cannabinoids in Man., in The Pharmacology of Marijuana, Brande, M.C. and S. Szara, editors, Raven Press, p. 93, 1976.
7. Chiang, C.N., and G. Barnett, Marijuana Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, in Cocaine, Marijuana, Designer Drugs: Chemistry, Pharmacology, and Behavior, Redda. K.K., C.A. Walker, and G. Barnett, editors, CRC Press, Boca Raton, FL. 1989
8. Rubenstein, K.E., R.S. Schneider, and E.F. Ullman, Homogeneous Enzyme Immunoassay: A New Imm

16.0 LEGENDA SIMBOLI – DIRETTIVA 98/79/CE

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

MEDIA diagnostici s.r.l.

Via Costiera 31 D/E
47100 FORLI (FC)

Telefono 0543 782.786

Fax 0543 782.787

e-mail info@mediadiagnostic.biz

web <http://www.mediadiagnostic.biz>

