

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, su supporto immunocromatografico (card), per la determinazione rapida e qualitativa della morfina in campioni di urine umane con valore soglia (cut-off) di 300 ng/ml

PRINCIPIO del METODO

Questa procedura analitica, qualitativa, si basa sul principio della cromatografia a flusso laterale. La velocità di esecuzione e la sensibilità analitica rendono questa metodologia la più diffusa negli screening qualitativi in merito all'assunzione di droghe d'abuso. Il presente sistema diagnostico permette la ricerca della morfina nelle urine umane

Il presente metodo fornisce risultati qualitativi e preliminari che dovrebbero essere sempre confermati con metodiche di riferimento, quali la gascromatografia/spettrometria di massa (gasmassa, GC/MS). Inoltre, i risultati positivi dovrebbero sempre essere supportati da evidenze cliniche o valutazioni specialistiche. Si consiglia di non formulare considerazioni cliniche e giudizi medico legali definitivi, basandosi soltanto su test relativi a droghe d'abuso, soprattutto nel caso di risultati positivi preliminari

CONSIDERAZIONI CLINICHE

Gli oppiacei comprendono un ampio gruppo di sostanze ad effetto analgesico con azione depressiva sul sistema nervoso centrale. Dosi elevate possono indurre alti livelli di assuefazione e dipendenza fisiologica dell'utilizzatore, provocando spesso una tendenza all'abuso del farmaco. Uno di essi, la morfina, viene escreta come non metabolizzata e rappresenta altresì il prodotto metabolico principale della degradazione della codeina e dell'eroina. La morfina è rilevabile nelle urine per diversi giorni dopo l'assunzione. Il test MOP ha un limite di rilevabilità di 300 ng/ml, che rappresenta anche il cut-off indicato per lo screening, stabilito dal SAMHSA (Substance Abuse and Mental Health Services Administration - USA).

La presente metodologia analitica rappresenta un valido test di screening che può essere eseguito senza l'ausilio di alcuna apparecchiatura di Laboratorio. Viene impiegato un anticorpo che rivela selettivamente elevate concentrazioni di MOP in campioni di urine umane. Il valore soglia (cut-off) del presente metodo, ovvero la minima concentrazione urinaria di morfina che produce un risultato POSITIVO, è di 300 ng/ml

PRINCIPIO DEL METODO

La procedura analitica utilizza una tecnologia immunocromatografica su membrana (immunodosaggio per inibizione competitiva). Durante il test, il campione di urina migra lungo la membrana per azione capillare l'analita, qualora presente nel campione, compete con molecole del medesimo composto chimico (antigene), immobilizzate sulla membrana porosa (linea T della membrana) e coniugate con cromogeno, per il legame con anticorpi anti-MOP presenti in concentrazione limitata. Quando l'analita è presente nel campione a concentrazione superiore o uguale al valore di cut-off (300 ng/ml) verranno saturati tutti i siti di legame dell'anticorpo; in conseguenza di ciò l'anticorpo stesso non potrà formare immunocomplessi con le molecole del composto chimico coniugato con cromogeno ed immobilizzate sul supporto (linea T della membrana) e, pertanto non si formerà la linea di colore rosa in corrispondenza di tale regione (regione del Test); la banda colorata, per contro, sarà visibile quando la concentrazione dell'analita nel campione risulterà inferiore al cut-off.

Il campione, indipendentemente dalla sua concentrazione in morfina, dovrà sempre sviluppare una linea colorata in rosa nella regione del Controllo (linea C), in quanto il coniugato si legherà comunque al reagente ivi immobilizzato.

Un campione negativo produrrà due distinte linee colorate, rispettivamente nelle regioni del test e del controllo; un campione positivo produrrà una linea colorata soltanto in corrispondenza della regione del controllo.

Il campione, indipendentemente dalla concentrazione di specifico analita, dovrà sempre produrre una banda colorata nella zona del controllo (contrassegnata con C), dimostrando che il sistema ha funzionato correttamente (controllo procedurale). Il supporto reattivo contenente la membrana immunocromatografica (card) è pronto all'uso.

REAGENTI

Il supporto di reazione immunocromatografico (card) contiene microparticelle rivestite con anticorpi monoclonali di tipo anti-morfina e coniugato proteina-morfina. Nella regione del controllo sono presenti anticorpi di coniglio.

MATERIALE A CORREDO

- Card
- Contagocce
- Manuale d'istruzione

MATERIALE NECESSARIO NON A CORREDO

- Contenitori monouso per campioni di urine
- Timer

PRECAUZIONI

1. Tutti i campioni biologici, le cards ed i monouso devono essere considerati potenzialmente infetti e, come tali, smaltiti secondo la normativa vigente
2. Per uso esclusivamente *in vitro*. Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza
3. Indossare guanti protettivi; lavarsi le mani alla fine della seduta analitica
4. Il kit è stato formulato esclusivamente per determinazioni *in vitro*
5. Portare tutto il materiale reagentario a T. A. prima della seduta analitica
6. La card deve rimanere sigillata fino al momento dell'uso. Non utilizzare la card qualora il relativo involucro risulti danneggiato.

STABILITÀ DEI REAGENTI

Il kit deve essere conservato a 2-30°C. I supporti immunocromatografici (cards) sono sensibili all'umidità ed al calore eccessivo. Si consiglia di effettuare il test al più presto dopo aver estratto la card dal sacchetto sigillato. Non utilizzare dopo la data di scadenza. **NON CONGELARE**

RACCOLTA DEL CAMPIONE

I campioni di urina devono essere raccolti in contenitore specifico monouso, senza aggiunta di stabilizzanti. I campioni di urina possono essere conservati fino a 48 ore a 2-8°C prima del test; per periodi prolungati di conservazione è necessario congelare a -20°C. Possono essere utilizzate urine raccolte in qualunque ora della giornata. Campioni contenenti precipitati visibili devono essere centrifugati, filtrati o lasciati decantare. Qualora venga utilizzato un campione refrigerato o congelato è necessario portarlo a T. A. prima di analizzarlo, solo dopo averlo risospeso accuratamente.

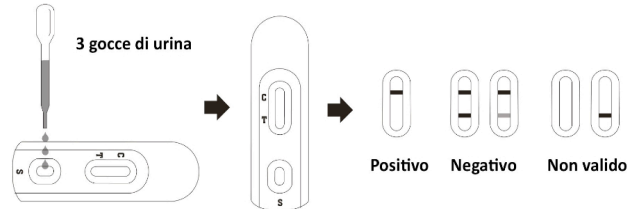
PROCEDURA ANALITICA

1. Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente
2. Togliere il supporto di reazione dall'involucro di protezione, tagliando il sacchetto lungo il bordo sigillato e porlo su una superficie piana. Utilizzare entro breve tempo
3. Riempire la pipetta contagocce con il campione da analizzare. Tenendo la pipetta verticale, dispensare esattamente 3 gocce di urina (circa 120 µl), evitando la formazione di bolle d'aria, nel pozzetto del campione (S)
4. Far partire il timer: leggere il risultato dopo 5 minuti

AVVERTENZA: per evitare una lettura errata, non interpretare mai il risultato oltre 10 minuti dalla dispensazione del campione.

INTERPRETAZIONE dei RISULTATI

Fare riferimento alle illustrazioni riportate di seguito



NEGATIVO: in aggiunta alla linea del controllo (C), si evidenzia una linea colorata nella zona Test (T). n.b.: anche la formazione di una linea debolmente colorata nella regione T è indice di risultato NEGATIVO, ovvero una concentrazione di MOP inferiore a 300 ng/ml

POSITIVO: si sviluppa la linea colorata soltanto nella regione di controllo (C); non appare la linea nella zona Test (T). Un risultato POSITIVO indica una concentrazione di MOP nel campione superiore a 300 ng/ml

NON VALIDO (RIPETERE): se si evidenzia soltanto una linea colorata nella zona (T) o non si evidenziano distinte linee colorate, sia nella zona del controllo che nella regione (T), il test è da considerarsi "non valido": si raccomanda di ripetere il test **IMPIEGANDO UNA NUOVA CARD**. N.B.: le cause più frequenti di un risultato NON VALIDO possono essere un volume insufficiente di campione dispensato e/o errori procedurali. Il controllo interno della procedura è incluso nel metodo stesso: lo sviluppo di una linea rosata nella regione del controllo (C) rappresenta il controllo procedurale, a conferma di una corretta esecuzione della metodica.

CONTROLLO DI QUALITÀ

1. La formazione o meno della linea colorata nella regione del controllo è da considerarsi di per se stessa una procedura di controllo di qualità interno.
2. L'utilizzo di un controllo esterno (urine a titolo certificato per i diversi analiti) è raccomandabile per valutare ulteriormente la correttezza dei dati analitici.

LIMITAZIONI DEL METODO

1. Il presente kit è stato formulato esclusivamente per la ricerca di MOP in campioni di urine umane e fornisce risultati analitici esclusivamente qualitativi e preliminari. Utilizzare metodiche secondarie di riferimento, quali la gascromatografia-spettrometria di massa (gasmassa, GC/MS)^{2,3} (o cromatografia liquida/spettrometria di massa LC/MS) per confermare i risultati
2. Sebbene questa procedura analitica sia particolarmente accurata nel riscontro di MOP nelle urine, sostanze potenzialmente interferenti potrebbero causare risultati errati
3. Composti chimici, quali agenti sbiancanti o fortemente ossidanti, qualora presenti nel campione di urina, possono provocare risultati errati con qualsiasi metodica analitica impiegata: qualora si sospetti una tale contaminazione, sarà necessario impiegare un nuovo campione di urina
4. Un risultato positivo indica la presenza di morfina ma non fornisce informazioni sulla relativa concentrazione, vie di somministrazione o livello di intossicazione
5. Un risultato negativo non indica necessariamente l'assenza di morfina nel campione: infatti, è possibile ottenere risultati negativi per campioni contenenti l'analita a concentrazioni inferiori al cut-off (300 ng/ml)
6. Il test non è in grado di distinguere la droga d'abuso da farmaci che eventualmente la contengano.

Pertanto, come tutti i test di Laboratorio, l'interpretazione ai fini della diagnosi deve essere supportata da tutte le altre indagini necessarie e disponibili, nonché dalle informazioni cliniche ottenibili

RISULTATI

Un risultato negativo indica che la morfina è assente nel campione o al di sotto del limite di sensibilità del metodo (300ng/ml). Un risultato positivo indica che la concentrazione di morfina è superiore a 300ng/ml. La sensibilità del metodo risulta, pertanto, di 300ng/ml

PRESTAZIONI DEL METODO

Accuratezza

Uno studio di correlazione è stato condotto utilizzando la presente procedura analitica ed analogo prodotto (test rapido) commerciale; sono stati impiegati 110 campioni provenienti da soggetti sottoposti a test di screening.

Nella Tabella sottoelencata sono riportati i risultati:

Metodo	Risultati	Test commerciale analogo		Risultati totali
		Positivi	Negativi	
Morphine Drug Test (MOP)	Positivi	51	0	51
	Negativi	0	59	59
Risultati totali		51	59	110
% Correlazione		>99.9%	>99.9%	>99.9%

Uno studio di correlazione è stato condotto utilizzando la presente procedura analitica e GC/MS, impostando il cut-off a 300 ng/ml; sono stati impiegati 310 campioni provenienti da soggetti sottoposti a test di screening. Nella Tabella sottoelencata sono riportati i risultati

Metodo	Risultati	GC/MS		Risultati totali
		Positivi	Negativi	
Morphine Drug Test (MOP)	Positivi	141	4	145
	Negativi	1	164	165
Risultati totali		142	168	310
% Correlazione		99.3%	97.6%	98.4%

Sensibilità analitica

Ad un pool di urine privo di morfina è stato aggiunto l'analita alle seguenti concentrazioni: 0 ng/ml, 150 ng/ml, 225 ng/ml, 300 ng/ml, 375 ng/ml, 450 ng/ml e 900 ng/ml. I risultati ottenuti hanno definito un'accuratezza >99% per concentrazioni comprese tra ±50% il valore di cut-off. I dati sono riportati nella Tabella sottostante

Morfina aggiunta (ng/mL)	Percentuale del Cut-off	n	Risultato visivo	
			Negativo	Positivo
0	0%	30	30	0
150	-50%	30	30	0
225	-25%	30	27	3
300	Cut-off	30	14	16
375	+25%	30	3	27
450	+50%	30	0	30
900	3X	30	0	30

Specificità analitica

I sottoelencati composti chimici, quando presenti nel campione di urina, evidenziano risultato positivo al test MOP dopo 5 minuti

Composto	Concentrazione (ng/mL)	Composto	Concentrazione (ng/mL)
Codeina	200	Morfina	300
Etilmorfina	6,000	Norcodeina	6,000
Idrocodone	50,000	Normorfone	50,000
Idromorfone	3,000	Ossicodone	30,000
Levorfanolo	1,500	Ossimorfone	50,000
6-Monoacetilmorfina	400	Procaina	15,000
Morfina 3-β-D-	800	Tebaina	6,000

Precisione analitica

Uno studio è stato condotto in 3 ospedali (A, B e C) analizzando i risultati ottenuti da operatori inesperti che hanno utilizzato 3 lotti diversi del kit MOP, per valutare la precisione intrasaggio, intersaggio e intraoperatore. A ciascun Laboratorio è stato assegnato identico pannello di campioni codificati secondo tecnica GC/MS (assenza di morfina, morfina a concentrazione ±25% al cut-off, morfina a concentrazione ±50% al cut-off di 300 ng/ml); i risultati sono riportati nella tabella sottostante:

Morfina (ng/mL)	n per Ospedale	Ospedale A		Ospedale B		Ospedale C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
50	10	10	0	10	0	10	0
225	10	9	1	8	2	9	1
375	10	2	8	1	9	2	8
450	10	0	10	0	10	0	10

Effetti sul peso specifico del campione di urina

15 campioni di urina di peso specifico normale, alto e basso sono stati addizionati con 150 e 450 ng/ml di morfina. Utilizzando il presente metodo sono state eseguite analisi in duplicato usando i 15 campioni sia addizionati che non. I risultati dimostrano che diversi valori di peso specifico non interferiscono con la determinazione analitica.

Effetti sul pH del campione di urina

Il pH di aliquote da un pool di campioni negativi è stato aggiustato in un intervallo di valori compreso tra 5 e 9 con incrementi di 1 unità e le aliquote addizionate con 150 e 450 ng/ml di morfina. Utilizzando il presente metodo sono state eseguite analisi in duplicato usando le aliquote addizionate. I risultati dimostrano che diversi valori di pH non interferiscono con la determinazione analitica.

INTERFERENZE ANALITICHE (cross-reattività)

È stato eseguito uno studio finalizzato alla valutazione delle possibili interferenze analitiche causate da particolari composti sia su campioni di urine prive di droghe da abuso che contenenti morfina. I composti elencati di seguito non hanno mostrato alcuna interferenza crociata, quando testati con il presente metodo alla concentrazione di 100 µg/ml:

4-Acetamidofenolo	Creatinina	Loperamide	b-Fenilettilamina
Acetofenetidina	Deossicorticosterone	Maprotilina	Fenilpropanolamina
N-Acetilprocainamide	Dextrometorfan	Meperidina	Prednisone
Acido acetilsalicilico	Diazepam	Meprobamato	D,L-Propranololo
Aminopirina	Diclofenac	Metadone	D-Propossifene
Amtriptilina	Diffunisal	Metossifenamina	D-Pseudoefedrina
Amobarbital	Digossina	(+) 3,4-Metilenediossi- amfetamina	Chinidina
Amoxicillina	Difenidramina	(+) 3,4-Metilenediossi- metamfetamina	Chinina
Ampicillina	Doxilamina	(+) 3,4-Metilenediossi- metamfetamina	Ranitidina
Acido L-ascorbico	Egonina idrocloruro	Acido nalidixico	Acido salicilico
D,L-Amfetamina	Eggoninametilestere	Nalorfina	Secobarbital
Apomorfina	(-)-ψ-Efedrina	Naloxone	Serotonina
Aspartame	Eritromicina	Naltrexone	(5-idrossitiramina)
Atropina	b-Estradiolo	Naprossene	Sulfametazina
Acido benzilico	Estrone-3-solfato	Niacinamide	Sulindac
Acido benzoico	Etili-p-aminobenzoato	Nifedipina	Temazepam
Benzolecgonina	Fenoprofene	Noretindrone	Tetraciclina
Benzfetamina	Furosemide	D-Norpropossifene	Tetraidrocortisone,
Bilirubina	Acido gentisico	Noscapina	3-Acetano
(±) - Bromfeniramina	Emoglobina	D,L-Octopamina	Tetraidrocortisone
Caffeina	Iralazina	Acido ossalico	3-(b-D glucuronide)
Cannabidiolo	Idroclorotiazide	Oxazepam	Tetraidrozolina
Cloralidrate	Idrocortisone	Acido oxolinico	Tiamina
Cloramfenicolo	Acido O-idrossippurico	Ossimetazolina	Tioridazina
Clordiazepossido	p-idrossi- metamfetamina	Papaverina	D, L-Tirosina
Clorotiazide	3-idrossitiramina	Penicillina-G	Tolbutamide
(±) Chlorfeniramina	Ibuprofen	Pentazocina	Triamterene
Clopramazina	Imipramina	Pentobarbital	Trifluoperazina
Clochina	Iproniazid	Perfenazina	Trimetoprim
Colesterolo	(±) Isoproterenolo	Fenciclidina	Trimipramina
Ciomipramina	Isosuprina	Fenelzina	Triptamina
Clonidina	Ketamina	Fenobarbital	D, L-Trptofano
Cocaina idrocloruro	Ketoprofene	Fentermina	Tiramina
Cortisone	Labelalolo	L-Fenilefrina	Acido urico
(-) Cotinina			Verapamil
			Zomepirac

BIBLIOGRAFIA

1. Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. 1986; 1735
2. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 1982; 488
3. Hawks RL, CN Chiang. Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute for Drug Abuse (NIDA), Research Monograph 73, 1986

Indice dei Simboli

	Attenzione, seguire le istruzioni per l'uso		Tests per kit		Rappresentante Autorizzato
	Per uso esclusivo "in vitro"		Utilizzare entro		Non riutilizzare
	Conservare a 2-30°C		Numero di Lotto		N. Catalogo #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				

Codici di Riordino:

C2165 MORPHINE DRUG TEST (MOP)

20 Test



Bio Plastic Sps - 00100 Roma

Numero: RP5000602
Data effettiva: 2013-05-15