



BENZODIAZEPINE E BARBITURICI URINARI IN LC-MS/MS

REF LC80310

ALLOBARBITAL, ALPRAZOLAM, AMOBARBITAL, BARBITAL, BROMAZEPAM, BUTALBITAL, CATINONE, CLOBAZAM, CLONAZEPAM, COCAETILENE, DIAZEPAM, ESOBARBITAL, FENTANYL, FLUNITRAZEPAM, IDROSSI-ALPRAZOLAM, IDROSSI-BROMAZEPAM, LORAZEPAM, LORMETAZEPAM, LSD, MESCALINA, NORDIAZEPAM, NORKETAMINA, OXAZEPAM, PENTOBARBITAL, SEC BUTARBITAL, SECOBARBITAL, TEMAZEPAM, TIOPENTALE

Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.



ISTRUZIONI PER L'USO

IVD

Per uso diagnostico *in vitro*

CE



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com

INDICE

DESTINAZIONE D'USO	3
CONTENUTO DEL KIT PER 100 TEST	3
ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE	4
STRUMENTAZIONE	4
MATRICE - PROCEDURA DI RACCOLTA E DI CONSERVAZIONE	5
VALORI DI RIFERIMENTO	5
PROCEDURA ANALITICA	6
GRADIENTE	7
PARAMETRI	7
FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DEGLI STANDARD INTERNI (SI) DEUTERATI	8
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I	9
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II	12
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III	13
CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO	14
AVVERTENZE GENERALI	16
ABBREVIAZIONI	17
BIBLIOGRAFIA	18
NORME DI RIFERIMENTO	19
SIMBOLI IVD	20

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico diagnostico *in vitro* per la rilevazione e l'analisi quantitativa di ALLOBARBITAL, ALPRAZOLAM, AMOBARBITAL, BARBITAL, BROMAZEPAM, BUTALBITAL, CATINONE, CLOBAZAM, CLONAZEPAM, COCAETILENE, DIAZEPAM, ESOBARBITAL, FENTANYL, FLUNITRAZEPAM, IDROSSI-ALPRAZOLAM, IDROSSI-BROMAZEPAM, LORAZEPAM, LORMETAZEPAM, LSD, MESCALINA, NORDIAZEPAM, NORKETAMINA, OXAZEPAM, PENTOBARBITAL, SEC BUTARBITAL, SECOBARBITAL, TEMAZEPAM, TIOPENTALE su urina come ausilio alla diagnosi di intossicazione di benzodiazepine e barbiturici e per uso forense. Metodo manuale per uso professionale.

CONTENUTO DEL KIT PER 100 TEST

CONTENUTO	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO	AVVERTENZE
Reagente A	Soluzione Tampone	1 x 4 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$ 
Reagente B	Enzima di Idrolisi	1 x 3 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$ 
Reagente C	Soluzione Standard Interni	1 x 2 ml	Stoccare a -25°C 
Reagente D	Soluzione Diluente	1 x 40 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$ 
Calibratore liofilo urinario multiparametrico		4 x 2 x 1 ml	(confezionato separatamente – Codice LC80316 - vedi scheda tecnica)
Reagente M1	Fase Mobile M1	2 x 500 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$ 
Reagente M2	Fase Mobile M2	2 x 500 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$ 

ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO
LC80316	Calibratore per Benzodiazepine e Barbiturici urinari	4 x 2 x 1 ml
LC80319	Controlli per Benzodiazepine e Barbiturici urinari – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
SK80310	Starter kit per Benzodiazepine e Barbiturici urinari	33 x 1 ml
LC80311	Fase mobile M1	4 x 500 ml
LC80321	Fase mobile M2	4 x 500 ml
LC80330	Soluzione mix Standard Interni deuterati in urina	1 x 2 ml
Z959757902	Colonna Analitica RRHD Eclipse Plus C18 (50 x 2,1 mm - 1,8 µm) per UHPLC	1 Pz
S29057U	Vial Standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz

STRUMENTAZIONE

DESCRIZIONE	AVVERTENZE
Strumento LC-MS triplo quadrupolo (Modalità MRM) Valvola divert a 6 vie Interfaccia ESI (+) Pompa Binaria	Necessario
Computer gestionale	Necessario
Autocampionatore	Necessario

MATRICE - PROCEDURA DI RACCOLTA E DI CONSERVAZIONE

MATRICE	PROCEDURA
Urina	Prelevare 10 ml di urina. Il campione è stabile per circa 3 mesi a  Centrifugare i campioni urinari prima di processarli.

VALORI DI RIFERIMENTO

Non esistono valori di cut off condivisi per i metodi di conferma per il dosaggio urinario di benzodiazepine e barbiturici. Si rimanda alla bibliografia a pagina 19.

PROCEDURA ANALITICA

FASE	DESCRIZIONE																												
1	Preparazione dei campioni: In vial da 2 ml dispensare in sequenza: <table><tr><td></td><td>Calibratore (µl)</td><td>Campione (µl)</td><td>Controlli (µl)</td></tr><tr><td>Calibratore</td><td>100</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Campione</td><td></td><td>100</td><td></td></tr><tr><td>Controlli</td><td></td><td></td><td>100</td></tr><tr><td>Reagente A</td><td>40</td><td>40</td><td>40</td></tr><tr><td>Reagente B</td><td>30</td><td>30</td><td>30</td></tr><tr><td>Reagente C</td><td>20</td><td>20</td><td>20</td></tr></table> Chiudere la vial con il tappo. Vortex per 5 sec.		Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controlli (µl)	Calibratore	100			Campione		100		Controlli			100	Reagente A	40	40	40	Reagente B	30	30	30	Reagente C	20	20	20
	Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controlli (µl)																										
Calibratore	100																												
Campione		100																											
Controlli			100																										
Reagente A	40	40	40																										
Reagente B	30	30	30																										
Reagente C	20	20	20																										
2	Incubare 1 ora a 55°C. Raffreddare a Temperatura ambiente.																												
3	Aggiungere 400 µl di <u>Reagente D</u> Vortex per 5 sec.																												
INIEZIONE	Iniettare 20 µl della soluzione nel Sistema LC.																												

GRADIENTE

TEMPO (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (µl/min)
0.0	95	5	400
0.5	95	5	400
8.0	25	75	400
8.1	0	100	400
10.0	0	100	400
10.1	95	5	400
12.0	95	5	400

PARAMETRI

Parametri settati su triplo quadrupolo

	BENZODIAZEPINE E BARBITURICI ESI POSITIVO (SCIEX 4500)	BENZODIAZEPINE E BARBITURICI ESI NEGATIVO (SCIEX 4500)
CURTAIN GAS	25	25
COLLISION GAS	10	10
ION SPRAY VOLTAGE	4.500 V	-4.500 V
TEMPERATURE	450°C	450°C
ION SOURCE GAS 1	55	55
ION SOURCE GAS 1	55	55

FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DEGLI STANDARD INTERNI (SI) DEUTERATI

ANALITI	RT	FRAMMENTI		SI DEUTERATI USATI PER LA CALIBRAZIONE	RT	FRAMMENTI	
		PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)			PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)
Allobarbitol (-)	4.1	207,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Alprazolam	6.6	309,0	281,0	Lorazepam-D4	6.6	327,1	281,0
Amobarbital (-)	5.9	225,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Barbital (-)	2.9	183,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Bromazepam	5.7	316,1	209,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Butalbital (-)	5.3	223,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Catinone	1.5	150,0	105,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Clobazam	6.4	301,1	259,1	Oxazepam-D5	6.5	292,1	246,1
Clonazepam	6.1	316,7	270,0	Clonazepam-D4	6.1	320,1	274,1
Cocaetilene	4.6	318,1	196,1	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Diazepam	7.2	285,1	154,0	Diazepam-D5	7.2	290,1	198,1
Esobarbital (-)	5.6	235,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Fentanyl	5.2	337,0	188,2	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Flunitrazepam	6.3	314,1	239,1	Clonazepam-D4	6.1	320,1	274,1
OH-Alprazolam	6.6	325,1	297,1	Lorazepam-D4	6.6	327,1	281,0
OH-Bromazepam	5.0	332,1	303,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Lorazepam	6.6	321,0	275,0	Lorazepam-D4	6.6	327,1	281,0
Lormetazepam	6.9	335,0	289,0	Lorazepam-D4	6.6	327,1	281,0
LSD	4.7	324,1	223,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Mescalina	2.8	212,1	165,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Nordiazepam	6.9	271,1	140,0	Diazepam-D5	7.2	290,1	198,1
Norketamina	3.5	225,1	126,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Oxazepam	6.5	287,1	104,0	Oxazepam-D5	6.5	292,1	246,1
Pentobarbital (-)	5.9	225,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Secbutarbital (-)	5.7	211,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Secobarbital (-)	6.3	237,0	42,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0
Temazepam	6.7	301,1	255,1	Oxazepam-D5	6.5	292,1	246,1
Tiopentale (-)	6.5	241,0	58,0	Bromazepam-D4	5.7	320,1	186,0

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
C LLOQ	Concentrazione al limite minimo di quantificazione
C1	Concentrazione bassa
C2	Concentrazione media
C3	Concentrazione alta
Max C	La più alta concentrazione

ANALITI	CONCENTRAZIONI USATE PER CALCOLARE LA RIPRODUCIBILITÀ E L'ACCURATEZZA (ng/ml)				
	C LLOQ	C1	C2	C3	MAX C
Allobarbitol	100	200	500	1.000	2.000
Alprazolam	1	100	200	500	1.000
Amobarbital	10	100	200	500	1.000
Barbital	10	100	200	500	1.000
Bromazepam	1	100	200	500	1.000
Butalbital	100	200	500	1.000	2.000
Catinone	1	100	200	500	1.000
Clobazam	1	100	200	500	1.000
Clonazepam	1	100	200	500	1.000
Cocaetilene	1	100	200	500	1.000
Diazepam	1	100	200	500	1.000
Esobarbital	10	100	200	500	1.000
Fentanyl	1	100	200	500	1.000
Flunitrazepam	10	100	200	500	1.000
OH-Alprazolam	1	100	200	500	1.000
OH-Bromazepam	1	100	200	500	1.000
Lorazepam	1	100	200	500	1.000
Lormetazepam	1	100	200	500	1.000
LSD	1	100	200	500	1.000
Mescalina	1	100	200	500	1.000
Nordiazepam	1	100	200	500	1.000
Norketamina	1	100	200	500	1.000
Oxazepam	1	100	200	500	1.000
Pentobarbital	10	100	200	500	1.000
Secbutarbitol	10	100	200	500	1.000
Secobarbital	10	100	200	500	1.000
Temazepam	1	100	200	500	1.000
Tiopentale	10	100	200	500	1.000

ANALITI	ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %)		ACCURATEZZA INTER SERIE (ERRORE RELATIVO %)	
	C1 (%)	C3 (%)	C1 (%)	C3 (%)
Allobarbital	9,53	4,82	12,53	8,43
Alprazolam	3,78	1,89	10,15	5,67
Amobarbital	6,13	7,63	7,83	8,35
Barbital	7,14	3,70	8,65	6,14
Bromazepam	5,86	4,05	10,60	8,21
Butalbital	4,80	1,56	9,54	2,07
Catinone	1,63	1,26	4,81	5,12
Clobazam	5,75	3,37	11,62	5,93
Clonazepam	5,28	5,58	9,08	8,46
Cocaetilene	4,92	4,15	12,56	8,23
Diazepam	7,95	4,47	10,84	7,89
Esobarbital	4,38	6,30	8,51	7,10
Fentanyl	3,55	3,84	6,60	4,86
Flunitrazepam	9,75	0,94	10,20	4,20
OH-Alprazolam	9,97	3,66	9,97	6,19
OH-Bromazepam	5,79	4,65	7,02	6,98
Lorazepam	5,35	4,69	8,27	7,45
Lormetazepam	6,60	1,78	7,88	6,27
LSD	7,79	6,28	11,85	6,55
Mescalina	10,61	1,14	11,70	4,60
Nordiazepam	4,34	5,21	5,52	6,45
Norketamina	4,61	2,51	6,86	5,51
Oxazepam	6,49	8,85	5,95	11,33
Pentobarbital	10,98	3,12	13,00	7,60
Secbutarbital	3,23	3,79	7,53	4,61
Secobarbital	3,32	6,70	6,60	8,72
Temazepam	2,96	6,72	8,95	6,82
Tiopentale	7,30	6,30	8,26	6,88

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II

ANALITI	RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)			RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)		
	C LLOQ %	C2 %	Max C %	C LLOQ %	C2 %	Max C %
Allobarbitol	7,88	7,85	7,56	11,38	10,41	10,56
Alprazolam	1,54	1,57	2,18	10,32	9,81	7,35
Amobarbital	1,83	5,67	3,20	10,42	21,49	22,23
Barbital	9,52	2,88	5,54	14,46	12,61	15,07
Bromazepam	5,31	6,53	3,43	7,49	9,22	9,87
Butalbital	5,60	8,15	8,72	12,57	14,53	10,49
Catinone	1,89	7,25	4,90	8,61	32,46	20,93
Clobazam	7,10	3,87	3,30	8,24	14,18	5,51
Clonazepam	3,69	2,32	3,54	10,53	5,03	4,76
Cocaetilene	7,11	5,17	1,80	7,31	9,28	5,26
Diazepam	6,59	5,11	2,52	6,96	5,61	5,81
Esobarbital	4,25	6,70	7,23	14,36	7,50	8,39
Fentanyl	6,34	5,47	2,66	13,95	8,55	9,83
Flunitrazepam	2,99	4,05	0,63	3,07	7,32	3,98
OH-Alprazolam	1,17	1,75	2,17	1,13	12,06	8,74
OH-Bromazepam	0,68	3,31	2,17	6,95	4,97	5,64
Lorazepam	5,01	5,43	3,08	12,28	8,71	3,76
Lormetazepam	4,18	5,33	2,41	11,78	6,55	6,44
LSD	3,01	5,95	2,17	8,84	7,00	4,75
Mescalina	1,47	7,82	1,32	12,07	8,75	19,93
Nordiazepam	6,14	4,36	6,12	10,31	8,84	6,28
Norketamina	7,65	5,54	2,33	12,03	7,75	16,14
Oxazepam	1,97	4,55	3,15	11,11	10,38	6,81
Pentobarbital	1,71	8,51	7,34	9,43	10,38	10,32
Secbutarbitol	5,59	4,59	6,52	12,31	1262	12,04
Secobarbital	4,87	5,39	6,47	13,45	13,40	12,76
Temazepam	3,24	3,81	4,31	9,96	11,95	6,74
Tiopentale	14,17	7,55	6,95	15,62	23,91	18,48

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III

ANALITI	LLOD (ng/ml)	LINEARITÀ ng/ml	COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R2 + DEV STD
Allobarbital	33,3	100 – 2.000	0,9907 ± 0,0008
Alprazolam	0,3	1 – 2.000	0,9916 ± 0,0012
Amobarbital	3,3	10 – 2.000	0,9956 ± 0,0006
Barbital	3,3	10 – 2.000	0,9923 ± 0,0039
Bromazepam	0,3	1 – 2.000	0,9949 ± 0,0031
Butalbital	33,3	100 – 2.000	0,9936 ± 0,0021
Catinone	0,3	1 – 2.000	0,9952 ± 0,0029
Clobazam	0,3	1 – 2.000	0,9922 ± 0,0015
Clonazepam	0,3	1 – 2.000	0,9937 ± 0,0028
Cocaetilene	0,3	1 – 2.000	0,9916 ± 0,0018
Diazepam	0,3	1 – 2.000	0,9941 ± 0,0032
Esobarbital	3,3	10 – 2.000	0,9935 ± 0,0018
Fentanyl	0,3	1 – 2.000	0,9922 ± 0,0033
Flunitrazepam	3,3	10 – 2.000	0,9952 ± 0,0027
OH-Alprazolam	0,3	1 – 2.000	0,9928 ± 0,0019
OH-Bromazepam	0,3	1 – 2.000	0,9955 ± 0,0031
Lorazepam	0,3	1 – 2.000	0,9939 ± 0,0013
Lormetazepam	0,3	1 – 2.000	0,9906 ± 0,0005
LSD	0,3	1 – 1.000	0,9922 ± 0,0025
Mescalina	0,3	1 – 2.000	0,9946 ± 0,0045
Nordiazepam	0,3	1 – 2.000	0,9952 ± 0,0021
Norketamina	0,3	1 – 2.000	0,9943 ± 0,0039
Oxazepam	0,3	1 – 2.000	0,9910 ± 0,0016
Pentobarbital	3,3	10 – 2.000	0,9904 ± 0,0075
Secbutarbital	3,3	10 – 2.000	0,9931 ± 0,0017
Secobarbital	3,3	10 – 2.000	0,9933 ± 0,0033
Temazepam	0,3	1 – 2.000	0,9942 ± 0,0016
Tiopentale	3,3	10 – 2.000	0,9930 ± 0,0020

CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO

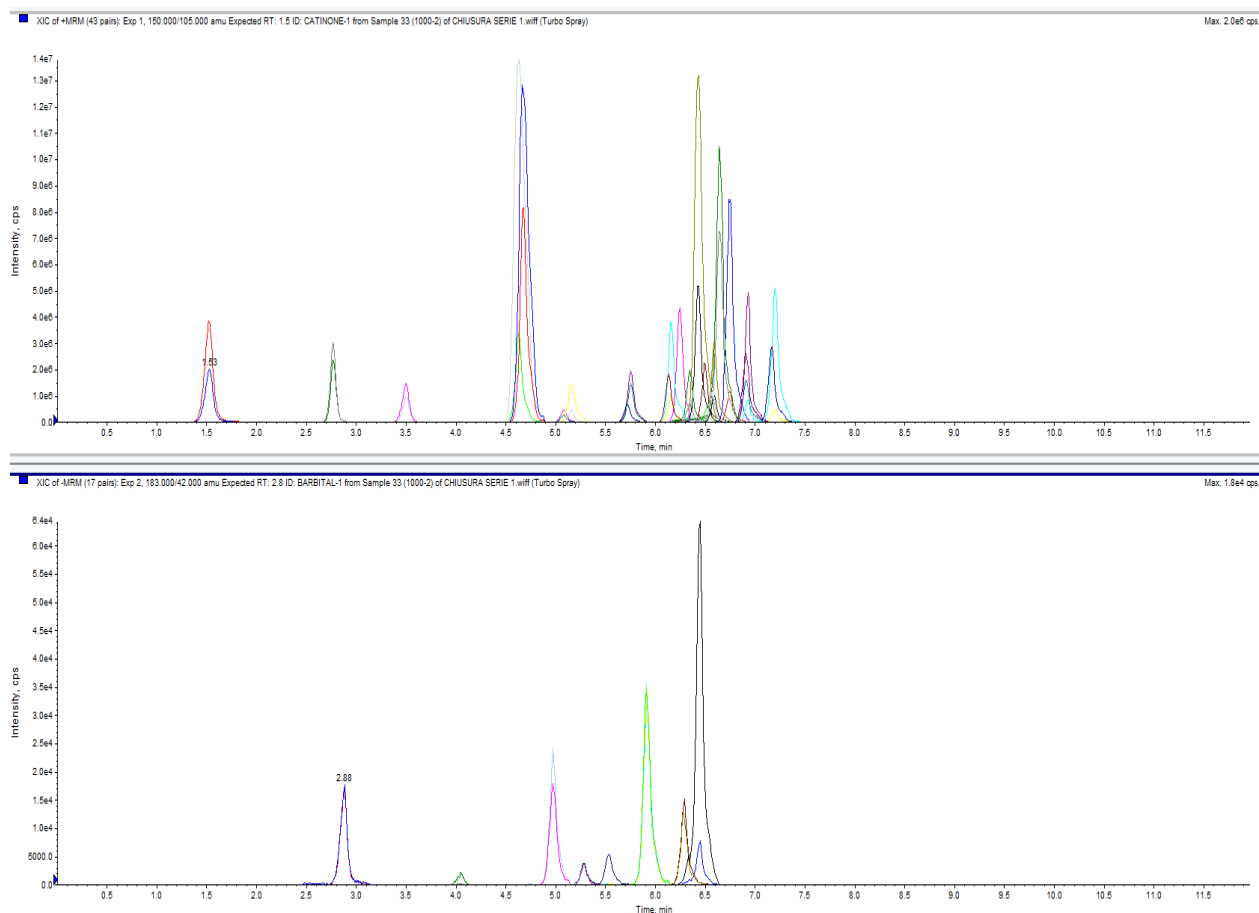


Fig. 1 Calibratore multiparametrico a 1000 ng/mL In alto le transizioni MRM in positivo, in basso le transizioni MRM in negativo

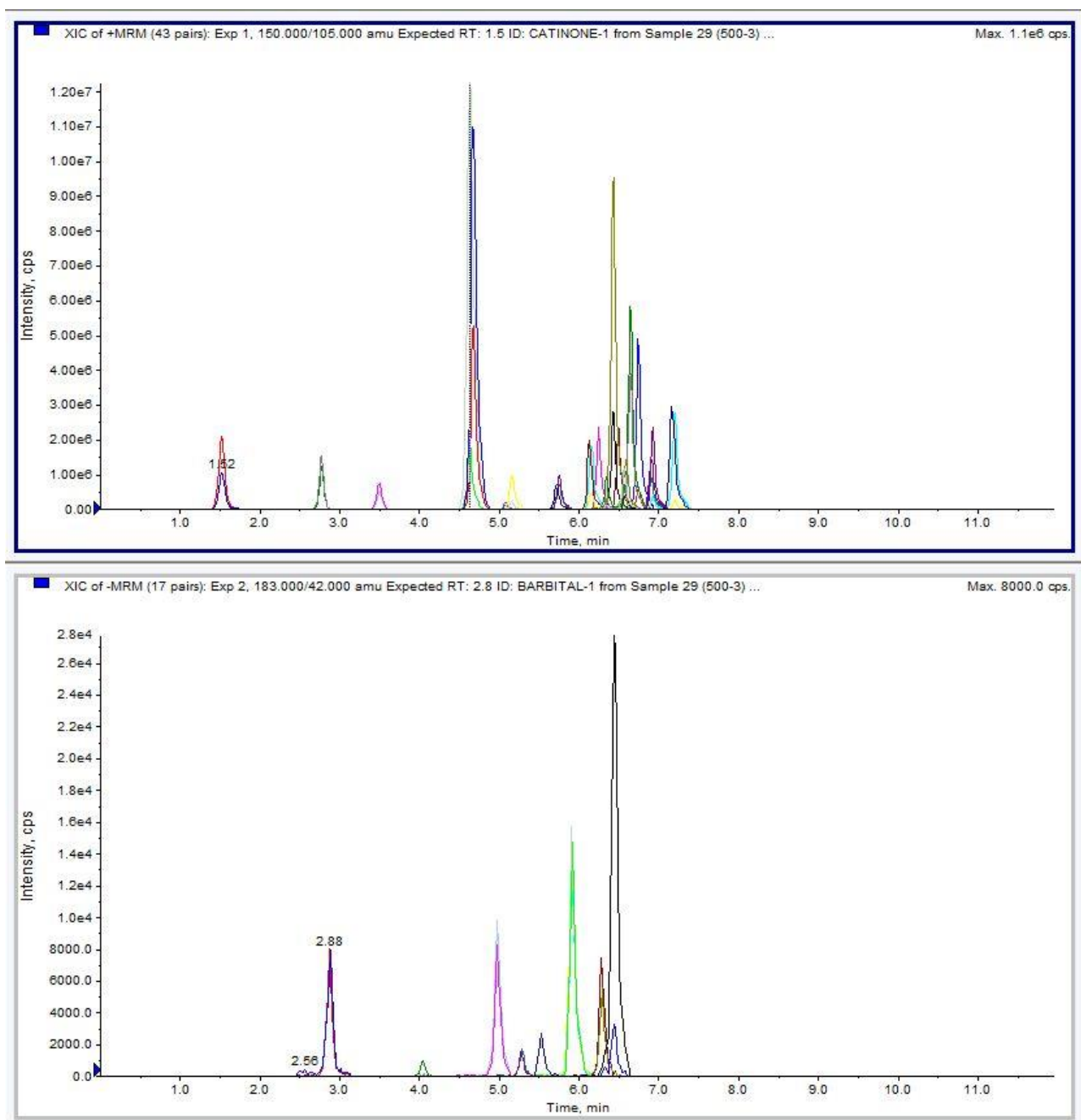


Fig 2. Controllo multiparametrico a 500 ng/mL In alto le transizioni MRM in positivo, in basso le transizioni MRM in negativo

AVVERTENZE GENERALI

1. STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

Tutti i componenti sono pronti all'uso. Sono stabili per 3 anni a $+2^{\circ}\text{C}$ (Soluzione Standard interni) che deve essere stoccato a -25°C .

Dopo l'apertura la durata dei nostri Standard Interni è di 6 mesi se conservati a -25°C .

2. TRATTAMENTO DELLA NUOVA COLONNA

Installare la nuova colonna analitica RRHD C18 (50 x 2,1 mm - 1,8 µm) termostata a 40°C. Scollegare il rilevatore e fluire 30 ml di una soluzione di H₂O: metanolo (20:80 v / v) e impostare il flusso a 300 µl / minuto. Non riciclare le soluzioni di lavaggio.

3. CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Condizionare la nuova colonna analitica RRHD C18 (50 x 2,1 mm - 1,8 µm) con Fasi Mobili M2: M1 (95: 5) impostare il flusso a 400 µl / minuto per 15 minuti e scaricare i primi 10 ml. Termostato a 40°C. Non è possibile effettuare analisi in fase di riciclo. Se la temperatura ambiente è >20°C,

conservare la fase mobile $+2^{\circ}\text{C}$ tra una sessione analitica e l'altra.

4. PULIZIA DELLA COLONNA

Scollegare il rilevatore. Flussare una soluzione composta da H₂O: Metanolo (20:80 v / v) per 30 minuti e scaricare. La colonna va stoccata in una soluzione di fasi mobili M2: M1 (95: 5).

5. LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa e l'ago con Metanolo prima dell'utilizzo

ABBREVIAZIONI

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
Es. 5 x 1 x 1 ml	N° di livelli x N° di vial x volume
Es. confezionamento dello starter kit: 27 x 1 ml	N° di vial x volume Nota: ogni vial contiene una molecola (analita o standard interno deuterato)
SI	Standard Interno
pz	Pezzo/Pezzi
RT	Tempo di Ritenzione
STD DEV	Deviazione Standard

BIBLIOGRAFIA

1. Jannetto PJ, Executive summary: American Association of Clinical Chemistry Laboratory Medicine Practice Guideline -using clinical laboratory tests to monitor drug therapy in pain management patients. J Appl Lab Med. 2018;2(4):489-526.
2. Langman Lj *et al.* Clinical toxicology In: Rifai N, Horwath AR, Wittwer CT, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 6th ed. Elsevier; 2018:832-887

NORME DI RIFERIMENTO

Sistema di **Garanzia della Qualità** conforme alle normative:

UNI CEI EN ISO 13485:2016,

UNI EN ISO 9001:2015

Ogni modifica apportata al Dispositivo Medico se non autorizzata da Eureka S.r.l. - Lab Division rende la presente dichiarazione non valida.

Si dichiara che i dispositivi in oggetto ottemperano alle seguenti **Norme Tecniche**:

UNI CEI EN ISO 14971:2012

UNI CEI EN ISO 15223-1:2017

UNI EN ISO 18113-2:2012

Si dichiara che il dispositivo in oggetto viene commercializzato in confezione non sterile.

SIMBOLI IVD

NUMERO	SIMBOLO	DESCRIZIONE
1		Fabbricante
2		Numero di catalogo
3		Avvertenze
4		Numero di lotto del prodotto
5		Utilizzare entro
6		Consultare le istruzioni per l'uso
7		Data di fabbricazione
8		Limite di temperatura
9		Per uso diagnostico <i>in vitro</i>
10		Conformità Europea
11		Confezione