

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF	10016429 (3 x 17 ml Indiko Kit)
	100089 (3 x 17 ml Kit)
	100098 (65 ml Kit)
	1661248 (495 ml Kit)

Anwendungsbereich

Bei dem CEDIA™ Opiate Assay handelt es sich um ein In-vitro-Diagnostikum zur qualitativen und halbquantitativen Bestimmung von Opiaten im Humanurin.

Der Assay bietet ausschließlich ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Zur Bestätigung der analytischen Ergebnisse muss eine spezifischere chemische Methode angewendet werden. Die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) ist die für diesen Zweck bevorzugte Methode. Klinische Überlegungen und eine fachliche Beurteilung sollten bei allen Drogen-Testergebnissen berücksichtigt werden, insbesondere bei vorläufig positiven Ergebnissen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Opium wird aus den unreifen Hülsen der Opium-Mohnblume *Papaver somniferum* gewonnen.^{2,3} Morphin und Codein sind natürlich vorkommende Opiumalkaloide.^{2,4} Beide werden häufig medizinisch verwendet, besonders als Analgetikum; beide werden jedoch auch häufig missbräuchlich benutzt.^{2,6} Heroin wird durch Synthese aus Morphin hergestellt und ist das am häufigsten missbräuchlich verwendete Opiat.⁷

Opiate (Morphin, Codein und Heroin) werden vom Körper sehr schnell metabolisiert, hauptsächlich in der Leber.^{4,8} Morphin wird im Urin als freies Morphin, konjugiertes Morphin und in Form von Spurenmetaboliten ausgeschieden.^{3,4,8} Codein wird im Urin als freies Codein, konjugiertes Codein sowie als freies und konjugiertes Morphin ausgeschieden.^{2,5} Nach Codeineinnahme kann das gesamte Codein schneller als das gesamte Morphin ausgeschieden werden, so dass in den Urinproben mancher Codeinbenutzer nur Gesamtmorphin oder ein Verhältnis von Gesamtmorphin zu Gesamtcodein von über eins gefunden wird.^{3,5,7} Heroin wird in Vollblut schnell zu 6-Monoacetylmorphin metabolisiert, das in der Leber anschließend zu konjugiertem Morphin hydrolysiert wird.^{3,6} Es wird im Urin hauptsächlich als konjugiertes Morphin und in kleinen Mengen als freies Morphin und 6-Monoacetylmorphin ausgeschieden.^{3,6} Je nach Dosis und Sensitivität der analytischen Methode kann Gesamtmorphin im Urin bis zu 72 Stunden nach der letzten Anwendung von Morphin, Codein oder Heroin nachgewiesen werden.^{3,5,7,8}

Für den CEDIA Opiate Assay wird rekombinante DNA-Technologie (US-Patentnr. 4708929) angewendet, um ein besonderes homogenes Enzymimmunoassay-System herzustellen.⁹ Der Assay beruht auf dem bakteriellen Enzym β -Galaktosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente zerlegt wurde. Diese Fragmente verbinden sich spontan wieder unter Bildung des voll aktiven Enzyms, das bei der Durchführung des Tests ein Substrat spaltet und damit eine spektrophotometrisch messbare Farbänderung hervorruft.

Opiat, an ein inaktives Fragment der β -Galaktosidase konjugiert, konkurriert im Assay mit Opiat aus der Probe um eine Antikörperbindungsstelle. Enthält die Probe Opiat, so bindet es sich an Antikörper. Die inaktiven Enzymfragmente bilden ein aktives Enzym. Enthält die Probe kein Opiat, so binden sich Antikörper an das mit dem inaktiven Enzymfragment konjugierte Opiat und verhindern sterisch die Rekombination der inaktiven β -Galaktosidase-Fragmente. Es wird kein aktives Enzym gebildet. Die gebildete Menge an aktivem Enzym und die entsprechende Extinktionsänderung sind zur Drogenkonzentration in der Probe proportional.

Reagenzien

- 1 EA-Rekonstitutionspuffer:** Enthält Citratpuffer, 3 μ g/ml monoklonale Antikörper der Maus gegen Opiate, Puffersalze, Stabilisator und Konservierungsmittel.
- 1a EA-Reagens:** Enthält 0,171 g/l Enzym-Akzeptor, Puffersalze, Detergens und Konservierungsmittel.
- 2 ED-Rekonstitutionspuffer:** Enthält Phosphatpuffer, Puffersalze und Konservierungsmittel.
- 2a Enzym-Spender-Reagens:** Enthält 23,3 μ g/l Enzym-Spender-Morphin-Konjugat; 1,67 g/l Chlorphenolrot- β -D-galaktopyranosid, Stabilisator und Konservierungsmittel.

Zusätzliche benötigte Materialien: Alternative Strichcode-Etiketten (nur Bestellnr. 100089 und 100098). Leere Analysegerät-Fläschchen für EA/ED-Lösung (Bestellnr. 100098). Leeres Analysegerät-Fläschchen für ED-Lösung (nur Bestellnr. 1661248).

Zusätzliche benötigte Materialien (separat verkauft):

- CEDIA Negative Calibrator
- CEDIA Multi-Drug Calibrator, Primary Clinical Cutoffs, Secondary Cutoffs, or Optional Cutoffs, (300 ng/ml)
- CEDIA Multi-Drug Intermediate Calibrator
- CEDIA Multi-Drug High Calibrator
- CEDIA Multi-Drug Clinical Control Set, Speciality Control Set or Optional Control Set

⚠ Vorsichtsmaßnahmen und Warnungen

GEFAHR: Pulverreagens enthält ≤ 56 Gew. % Rinderserumalbumin (BSA) und ≤ 2 Gew. % Natriumazid. Flüssigreagens enthält $\leq 1,0$ % Rinderserum, $\leq 0,3$ % Natriumazid und $\leq 0,1$ % wirkstoffspezifische Antikörper (Maus).

H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 – Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. EUH032 – Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Staub/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Vorbereitung und Aufbewahrung der Reagenzien

Das Kit unmittelbar vor der Vorbereitung der Lösungen aus dem Kühlschrank nehmen. Um das Risiko einer Kontamination zu minimieren, sollten die Lösungen in folgender Reihenfolge zubereitet werden:

R2 - Enzym-Spender-Lösung: Fläschchen 2a (ED-Reagens) mit Fläschchen 2 (ED-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 2a in Fläschchen 2 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und entsorgen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-25 °C) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken.

R1 - Enzym-Akzeptor-Lösung: Fläschchen 1a (EA-Reagens) mit Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material von Fläschchen 1a in Fläschchen 1 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 1a und Adapter von Fläschchen 1 abnehmen und wegwerfen. Fläschchen 1 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (15-25 °C) stehen lassen. Nochmals mischen. Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken.

HINWEIS 1: Die Komponenten dieses Kits sind zum Gebrauch als eine Einheit vorgesehen. Komponenten verschiedener Chargen nicht mischen.

HINWEIS 2: Kreuzkontamination von Reagenzien durch Verwechslung der Fläschchenstüpsel vermeiden. Die R2-Lösung sollte gelb-orange sein. Wenn das Reagens dunkelrot oder purpurrot ist, wurde es kontaminiert und muss entsorgt werden.

HINWEIS 3: Die R1- und R2-Lösung muss vor Durchführung des Assays die Lagerungstemperatur des Reagensfaches des Analysegerätes erreichen. Zusätzliche Informationen finden Sie im Applikationsblatt für das jeweilige Analysegerät.

HINWEIS 4: Vor längerer starker Lichteinwirkung schützen, um die Stabilität der rekonstituierten EA-Lösung zu gewährleisten.

Die Reagenzien bei 2-8 °C aufbewahren. **NICHT EINFRIEREN.** Die Stabilität der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf den Etiketten der Verpackung und Fläschchen zu entnehmen.

R1-Lösung: 60 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8 °C.

R2-Lösung: 60 Tage gekühlt auf dem Analysegerät oder bei 2-8 °C.

Probennahme und -vorbereitung

Sammeln Sie Urinproben stets in Kunststoffbehältern oder Glasgefäßen.

Proben, die bei Raumtemperatur aufbewahrt und nicht innerhalb von 7 Tagen¹⁰ nach Ankunft im Labor untersucht werden, können zwei Monate lang in einer gesicherten Kühleinheit bei 2 bis 8 °C aufbewahrt werden.¹¹ Bei einer längeren Lagerung vor der Untersuchung oder zur Aufbewahrung der Proben nach der Untersuchung sollten diese bei -20 °C aufbewahrt werden.^{11,12}

Labore, die nach den verbindlichen SAMHSA-Richtlinien arbeiten, sollten sich an die SAMHSA-Bestimmungen zur „Kurzeitigen gekühlten Lagerung“ und zur „Langfristigen Lagerung“ halten.¹³

Zum Schutz der Probenintegrität sollte Schaumbildung sowie wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermieden werden. Pipettierte Proben sollten möglichst frei von groben Verschmutzungen gehalten werden. Es wird empfohlen, stark eingetrübte Proben vor der Analyse zu zentrifugieren. Tiefgekühlte Lagerung sind vor der Analyse vollständig aufzutauen und gründlich zu vermischen. Eine Verfälschung von Urinproben kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Falls eine Verunreinigung vermutet wird, sollte eine weitere Probe genommen und beide Proben an das Labor geschickt werden.

Alle Urinproben sind wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.

Durchführung des Assays

Zur Durchführung dieses Assays können Geräte für chemische Analysen verwendet werden, bei denen die Temperatur konstant gehalten wird und mit denen Proben pipettiert, Reagenzien gemischt, die Geschwindigkeit von Enzymreaktionen gemessen und die Reaktionszeit genau bestimmt werden kann. Applikationsblätter mit spezifischen Instrumentparametern können von Microgenics, teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.

Für die halbquantitative Bestimmung werden nur mit den 17 ml-Kits und 65 ml-Kits zusätzliche Strichcode-Etiketten zur Verfügung gestellt. Überkleben Sie auf jeder Flasche das alte Etikett mit dem richtigen Etikett.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung¹⁴

Qualitative Analyse

Verwenden Sie zur qualitativen Analyse von Proben den Multi-Drug Calibrator, Primary Clinical Cutoffs, Optional Cutoffs or Secondary Cutoffs. Siehe Applikationsblatt zum jeweiligen Analysegerät.

Halbquantitative Analyse

Verwenden Sie zur halbquantitativen Analyse von Proben den Multi-Drug Calibrator, Primary Clinical Cutoffs, Optional Cutoffs or Secondary Cutoffs, zusammen mit dem Negative, Multi-Drug Intermediate and High Calibrators.

Nach guter Laborpraxis sollten Kontrollbestimmungen an allen Tagen, an denen Patientenproben untersucht werden, und bei jeder Kalibrierung durchgeführt werden. Es wird empfohlen, mit 2 Qualitätskontrollen zu überprüfen: die eine 25 % über dem gewählten Cutoff, die andere 25 % unter dem gewählten Cutoff. Verwenden Sie zur Qualitätskontrolle den CEDIA Multi-Drug Clinical Control Set, Specialty Control Set or Optional Control Set. Bei Reagenswechsel sowie bei Abweichungen in den Kontrollwerten sollte die Kalibrierung wiederholt werden. Jedes Labor sollte die Häufigkeit seiner Kontrollen selbst festlegen. Die Beurteilung der Qualitätskontrolle sollte auf den Werten beruhen, die für die Kontrollen erhalten werden und innerhalb festgelegter Grenzen liegen müssen. Wenn Sie Änderungstendenzen oder plötzliche Änderungen sehen, sollten alle Betriebsparameter überprüft werden. Weitere Hilfe können Sie vom Kundendienst von Microgenics erhalten. Alle Qualitätskontrollen sollten in Übereinstimmung mit örtlichen und staatlichen Vorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

Ergebnisse und erwartete Werte

Qualitative Ergebnisse

The Multi-Drug Calibrator, Primary Clinical Cutoffs, Optional Cutoffs or Secondary Cutoffs, (jeweils mit 300 ng/ml Morphin) werden als Referenz zur Unterscheidung zwischen positiven und negativen Proben verwendet. Proben, die einen Reaktionswert ergeben, der gleich oder größer ist als der Reaktionswert des Cutoff-Kalibrators, sind als positiv anzusehen. Proben, die einen Reaktionswert ergeben, der kleiner ist, als der Reaktionswert des Cutoff-Kalibrators, sind als negativ anzusehen. Zusätzliche Informationen finden Sie in den Parameter-Datenblättern des Instruments zum jeweiligen Analysegerät.

Halbquantitative Ergebnisse

Der Multi-Drug Calibrator, Primary Clinical Cutoffs, Optional Cutoffs or Secondary Cutoffs, zusammen mit dem Negative und dem Multi-Drug Intermediate and High Calibrators, können zur Abschätzung der relativen Konzentration von Opiaten verwendet werden.

Zur Angabe der Konzentrationswerte sollten andere Faktoren, welche das Urtestergebnis beeinflussen können, berücksichtigt werden. Dazu gehören weitere biologische Faktoren wie z.B. die Flüssigkeitsaufnahme.

Einschränkungen

- Ein positives Testergebnis zeigt das Vorhandensein von Opiaten an; es besagt jedoch nichts über das Vorliegen oder den Grad einer Intoxikation.
- Mohnsamen können Opiate enthalten. Deshalb kann der Verzehr von Lebensmitteln, die Mohnsamen enthalten, zu einem positiven Testergebnis führen.^{15, 16}
- Andere nicht aufgeführte Substanzen und/oder Faktoren (wie z.B. technische oder Verfahrensfehler) können den Test störend beeinflussen und falsche Ergebnisse liefern.
- Bei der halbquantitativen Durchführung geben die Ergebnisse des CEDIA Opiate Assay die Gesamtkonzentration der untersuchten Droge nur annäherungsweise an.

Spezifische Leistungsdaten

Typische, mit dem Hitachi 717 Analysegerät erhaltene Ergebnisse werden unten gezeigt.¹⁷ Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse von diesen Daten. Für weitere Funktionskennwerte anderer Analysegeräte siehe das gerätespezifische Applikationsblatt.

Präzision

In Präzisionsstudien mit verpackten Reagenzien und Kalibratoren wurden mit dem Hitachi 717 Analysegerät unter Befolgung der amerikanischen NCCLS-Richtlinien für modifizierte Replikationsexperimente folgende Ergebnisse in mA/min erhalten:

ng/ml	Serien-Präzision			Gesamt-Präzision		
	225	300	375	225	300	375
n	120	120	120	120	120	120
\bar{x}	269,8	316,8	361,4	269,8	316,8	361,4
SD	4,23	4,54	4,84	11,38	15,04	15,27
%CV	1,6	1,4	1,3	4,2	4,8	4,2

Genauigkeit

Es wurden 600 Urinproben mit dem CEDIA Opiate Assay am Hitachi 717 und mit dem Syva Emit® II Opiate Assay (Referenzmethode) überprüft. Die Ergebnisse fielen wie folgt aus:

		CEDIA	
		+	-
Emit® II	+	100	0
	-	3*	497

Sensitivität 100 %
Spezifität 99,4 %

*2 der 3 Proben wurden mittels GC/MS geprüft, wobei eine Gesamtmorphinkonzentration von 227 bzw. 241 ng/ml festgestellt wurde. Die dritte Probe wurde mit dem Emit® II halbquantitativen Protokoll geprüft und wies eine Konzentration von 196 ng/ml auf. Die Probe wurde mittels GC/MS geprüft, wobei hohe Konzentrationen von Imipramin und dessen Metaboliten festgestellt wurden.

Spezifität

Die folgenden Stammverbindungen und Metaboliten ergaben bei Prüfung mit dem CEDIA Opiate Assay die folgenden Ergebnisse zur Kreuzreaktivität (in %):

Substanz	% Kreuz-Reaktivität
Morphin	100
Codein	125
Diacetylmorphin	67
Dihydrocodein	62
Hydrocodon	59
Hydromorphon	66
Imipramin	1,6
Morphine-3-Glukuronid	94
Morphine-6-Glukuronid	57
6-Monoacetylmorphin	81
Meperidin	0,2
Oxymorphon	1,9
Oxycodon	3,1

Hohe Konzentrationen an Rifampicin können evtl. fälschlicherweise zu einem positiven Testergebnis führen. Floxin kann in einer Konzentration von 100.000 µg/ml zu einem positiven Testergebnis führen.

Strukturell nicht verwandte Substanzen wurden mit dem CEDIA Opiate Assay überprüft und lieferten bei folgenden Konzentrationen negative Ergebnisse:

Substanz	Konzentration ng/ml	Substanz	Konzentration ng/ml
Acetaminophen	500.000	Levothyroxin	50.000
Acetylsalicylsäure	500.000	Methadon	500.000
Amoxicillin	100.000	Methamphetamin	500.000
Amphetamin	500.000	Nifedipin	500.000
Benzoylgononin	500.000	Phencyclidin	500.000
Captopril	500.000	Phenobarbital	500.000
Chlordiazepoxid	100.000	Propoxyphen	100.000
Cimetidin	500.000	Ranitidin	500.000
Diazepam	100.000	Salicylsäure	500.000
Digoxin	100.000	Secobarbital	500.000
Enalapril	500.000	11-nor- Δ^9 -THC-COOH	10.000
Fluoxetin	500.000	Verapamil	500.000
Ibuprofen	500.000		

Folgende Substanzen, die dem Urin zusätzlich zu normalerweise vorhandenen Konzentrationen zugesetzt wurden, verursachten keine Störungen bei der Untersuchung mit dem CEDIA Opiate Assay:

Substanz	getestete Konzentration	Substanz	getestete Konzentration
Aceton	≤ 1,0 g/dl	Hämoglobin	≤ 0,3 g/dl
Ascorbinsäure	≤ 1,5 g/dl	Harnstoff	≤ 6,0 g/dl
Creatinin	≤ 0,5 g/dl	Human Serumalbumin	≤ 0,5 g/dl
Ethanol	≤ 1,0 g/dl	Natriumchlorid	≤ 6,0 g/dl
Galactose	≤ 10 mg/dl	Oxalsäure	≤ 0,1 g/dl
Gammaglobulin	≤ 0,5 g/dl	Riboflavin	≤ 7,5 mg/dl
Glucose	≤ 3,0 g/dl		

Sensitivität

Bei qualitativer Untersuchung lag die Nachweisgrenze bei 21,6 ng/ml.

Literatur

- Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 1986;73:30-41.
- Balant LP, Balant-Gorgia AE. Opium and its derivatives. Clin Ther. 1992;14:846-848.
- Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 4th ed. Foster City, Calif: Chemical Toxicology Institute; 1995.
- Glare PA, Walsh TD. Clinical pharmacokinetics of morphine. Ther Drug Monit. 1991;13:1-23.
- Cone EJ, Welch P, Paul BD, Mitchell JM. Forensic drug testing for opiates, III. Urinary excretion rates of morphine and codeine following codeine administration. J Anal Toxicol. 1991; 15 :161-166.
- Cone EJ, Welch P, Mitchell JM, Paul BD. Forensic drug testing for opiates, I. Detection of 6-acetylmorphine in urine as an indicator of recent heroin exposure; drug and assay considerations and detection times. J Anal Toxicol. 1991;15:17.
- Mitchell JM, Paul BD, Welch P, Cone EJ. Forensic drug testing for opiates, II. Metabolism and excretion rate of morphine in humans after morphine administration. J Anal Toxicol. 1991;15:49-53.
- Hasselström J, Säwe J. Morphine Pharmacokinetics and Metabolism in Humans: Enterohepatic cycling and relative contribution of metabolites to active opioid concentrations. Clin Pharmacokinet. 1993;24:344-354.
- Henderson DR, Friedman SB, Harris JD, et al. CEDIA, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32:1637-1641.
- Ciuiti R, Quercioli M, Borsotti M. Stabilità delle principali droghe d'abuso in campioni di urine non trattate rispetto a campioni di urine stabilizzate. *Biochimica Clinica* 2014, vol. 38, n. 2.
- Gonzales E, Ng G, Pesce A, West C, West R, Mikel C, Llaatyshv, S, Almazan P. Stability of pain-related medications, metabolites and illicit substances in urine. *Clinica Chimica Acta* 416: (2013) 30-35.
- C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (April 2007).
- Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines; Federal Register, Substance Abuse and Mental Health Administration (SAMHSA), (1994) 110 (June 9):11983.
- Daten über Nachweisbarkeit können bei Microgenics Corporation/teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.
- Hayes LW, Krasselt WG, Mueggler PA. Concentrations of morphine and codeine in serum and urine after ingestion of poppy seeds. Clin Chem. 1987;33:806-808.
- Struempfer RE. Excretion of codeine and morphine following ingestion of poppy seeds. J Anal Toxicol. 1987;11:97-99.
- Daten können bei Microgenics Corporation, teil von Thermo Fisher Scientific angefordert werden.

Glossar:

<http://www.thermofisher.com/symbols-glossary>



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundendienst und technischer
Support für die USA:
1-800-232-3342



B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany



Aktualisierte Packungsbeilagen finden Sie unter:
www.thermofisher.com/diagnostics

Andere Länder:

Wenden Sie sich bitte an die zuständige Vertretung von Thermo Fisher Scientific.