

Ensayo del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA®

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Para uso diagnóstico in vitro

Rx Only

REF 100107 (3 x 17 ml)
10015213 (3 x 17 ml Indiko Kit)
100108 (65 ml Kit)
100186 (495 ml Kit)

Indicaciones

El ensayo del metabolito de heroína (6-acetilmorfina o 6-AM) de CEDIA® es un inmunoensayo enzimático homogéneo para la determinación cualitativa y semicuantitativa in vitro del metabolito de la heroína (6-AM) en la orina humana en analizadores automáticos de bioquímica clínica. Las mediciones se utilizan como ayuda en la detección del consumo de heroína o sobredosis.

El ensayo únicamente ofrece un resultado analítico cualitativo preliminar. Es necesario utilizar un método químico alternativo más específico con el fin de obtener un resultado analítico confirmado. El método de confirmación preferente es la cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM)†. Se han de aplicar las consideraciones clínicas y el buen juicio profesional ante cualquier resultado de una prueba de drogas duras, en particular cuando los resultados preliminares resulten positivos.

Resumen y explicación de la prueba

La heroína (3,6-diacetilmorfina) se produce por modificación química de la morfina, un alcaloide natural que se encuentra en las vainas verdes de la adormidera, *Papaver somniferum*^{2,3}. La heroína es altamente adictiva y actualmente se encuentra incluida en la Lista I de sustancias (cuyo uso médico no está aceptado en la actualidad). La heroína es la droga opiácea que más se consume^{4,5}, y su uso está asociado con una amplia variedad de problemas de salud. La heroína se administra por inyección intravenosa o subcutánea o por vía nasal⁶. Se metaboliza rápidamente (semivida de 9 minutos) a 6-AM por acción de las esterasas de la sangre y, posteriormente, a morfina por hidrólisis en el hígado.

Se considera que la presencia de 6-AM en la orina es un marcador específico del uso ilícito de heroína^{6,8}. La 6-AM no se puede formar por acetilación de la morfina en el cuerpo, por lo que la presencia de 6-AM no puede ser causada por una inyección de analgésicos opiáceos legales o por grandes cantidades de semillas de amapola. Por esta razón, el Department of Health and Human Services (DHHS, Departamento de Salud y Servicios Humanos), presentó las directrices revisadas para las pruebas de opiáceos, que obligan a someter todas las muestras de orina positivas para opiáceos a análisis para la detección de 6-A, con el fin de confirmar el abuso de heroína⁹. La semivida de 6-AM es de aproximadamente 35 minutos. El tiempo durante el cual la medición de la 6-AM sirve como diagnóstico del consumo de heroína depende de la cantidad de heroína tomada. Es probable que incluso en el caso de las dosis más altas de la heroína, el tiempo de detección esté limitado a las 24 horas después del consumo⁶.

El ensayo del metabolito de la heroína CEDIA utiliza la tecnología del ADN recombinante (Patente de EE. UU. N.º 4708929) para producir un sistema único y homogéneo de inmunoensayo enzimático¹⁰. Este ensayo está basado de la enzima bacteriana β-galactosidasa, que ha sido genéticamente modificada en dos fragmentos inactivos. Estos fragmentos, denominados aceptador enzimático (EA) y donante enzimático (ED), se vuelven a asociar de forma espontánea para formar una enzima plenamente activa que, en el formato de ensayo, produce el corte de un sustrato, lo que genera un cambio de color que se puede medir espectrofotométricamente.

En el ensayo del metabolito de la heroína CEDIA, la muestra compete con la 6-AM conjugada con el ED por los sitios de unión de los anticuerpos. Si 6-AM está presente en la muestra, se unirá al anticuerpo, lo que deja libre al conjugado ED-6-AM para volver a asociarse con el EA para formar β-galactosidasa activa. Si no hay 6-AM en la muestra, el anticuerpo se unirá al conjugado ED-6-AM, inhibiendo de este modo la reasociación de los fragmentos inactivos de β-galactosidasa y, por lo tanto, reduciendo la cantidad de enzima activa formada. La cantidad de enzima activa formada y el cambio de absorbancia resultante es proporcional a la cantidad de 6-AM presente en la muestra.

Reactivos

- Tampón de reconstitución EA:** contiene 0,32 mg/L de anticuerpos monoclonales de ratón contra 6-acetilmorfina, sales amortiguadoras, detergente y conservante.
- 1a Reactivo EA:** contiene 0,171 g/l de aceptador enzimático, sales amortiguadoras, detergente y conservante.
- 2 Tampón de reconstitución ED:** contiene sales amortiguadoras y conservante.
- 2a Reactivo ED:** contiene 16,2 µg/l de donante enzimático conjugado con 6-acetilmorfina, 1,67 g/l de rojo de clorofenol-β-D galactopiranosido, estabilizante y conservante.

Materiales adicionales: etiquetas de código de barras alternativas (n.º de ref. 100107 y 100108, consulte la hoja de aplicación del analizador específico para obtener instrucciones sobre su uso). Frascos de analizador vacíos para introducir las soluciones de EA/ED (n.º de ref. 100108). Frascos de analizador vacíos para introducir las soluciones de ED (n.º de ref. 1000186 solamente).

Materiales adicionales necesarios (se venden por separado):

1557416	Calibrador negativo CEDIA, 5 ml
1661388	Calibrador negativo CEDIA, 10 ml
100031	Calibrador discriminatorio del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA, 5 ml
100034	Calibrador alto del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA, 5 ml
100202	Juego de control MGC Select, 3 x 5 ml

⚠️ Precauciones y advertencias

- Esta prueba está diseñada exclusivamente para uso diagnóstico in vitro. Los reactivos son nocivos por ingestión.
- No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.

PELIGRO: El reactivo en polvo contiene ≤55% p/p de albúmina sérica bovina (BSA) y ≤1% p/p de azida sódica. El reactivo líquido contiene ≤0,5% de albúmina sérica bovina (FBS), ≤0,15% de azida sódica y ≤0,1% de anticuerpo específico contra el fármaco (ratón).

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

H334 - Puede provocar síntomas de alergia o asma, o dificultades respiratorias en caso de inhalación.

EUH032 - En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

Evitar respirar polvos, humos, gases, nieblas, vapores y aerosoles. Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. Llevar guantes de protección/protección para los ojos/máscara de protección. En caso de ventilación insuficiente, llevar equipo de protección respiratoria. En caso de contacto con la piel: Lavar la zona con abundante agua y jabón. EN CASO DE INHALACIÓN: Si la víctima respira con dificultad, transpórtela al exterior y manténgala en reposo en una posición en la que respire con comodidad. En caso de irritación o erupción de la piel: Buscar asesoramiento o asistencia médica inmediata. En caso de experimentar síntomas de dificultad respiratoria: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas. Eliminar el contenido/el recipiente en un lugar que esté en conformidad con las normativas locales, regionales, nacionales e internacionales.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

A continuación se describe la preparación de las soluciones para analizadores Hitachi. En el caso de otros analizadores, consulte la hoja de aplicación del analizador específico.

Retire el kit del almacenamiento refrigerado inmediatamente antes de la preparación de las soluciones.

Prepare las soluciones en el siguiente orden con el fin de reducir al mínimo el riesgo de una posible contaminación:

Solución de donante enzimático R2: conecte el frasco 2a (Reactivo ED) al frasco 2 (tampón de reconstitución ED) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle mediante inversión suave, asegurándose de que todo el material liofilizado del frasco 2a se transfiera al frasco 2. Evite la formación de espuma. Separe el frasco 2a y el adaptador del frasco 2 y deséchelos. Tape el frasco 2 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (15–25 °C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de reconstitución en la etiqueta del frasco.

Solución de aceptador enzimático R1: conecte el frasco 1a (Reactivo EA) al frasco 1 (tampón de reconstitución EA) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle mediante inversión suave, asegurándose de que todo el material liofilizado del frasco 1a se transfiera al frasco 1. Evite la formación de espuma. Separe el frasco 1a y el adaptador del frasco 1 y deséchelos. Tape el frasco 1 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (15–25 °C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de reconstitución en la etiqueta del frasco.

N.º de ref. 100108-Analizador Hitachi 717, 911, 912 o 914: transfiera los reactivos reconstituídos a los frascos vacíos R1 y R2 correspondientes de 100 ml que se incluyen con el kit. **Analizador Hitachi 917/Sistema analítico modular P:** use los reactivos reconstituídos sin transferirlos a los frascos. Deseche los frascos vacíos de 100 ml.

N.º de ref. 100186-Analizador Hitachi 747/Sistema analítico modular D: utilice el embudo incluido para transferir una parte de la solución R2 al frasco vacío de solución R2 incluido, debidamente etiquetado.

NOTA 1: los componentes suministrados en este kit están concebidos para su uso como una unidad integral. No mezcle componentes de diferentes lotes.

NOTA 2: evite la contaminación cruzada de los reactivos utilizando los tapones de reactivos solamente en los frascos de reactivo adecuados. La solución R2 debe tener un color amarillo-naranja. Un color rojo oscuro o violeta-rojo indica que el reactivo se ha contaminado y debe desecharse.

NOTA 3: las soluciones R1 y R2 deben encontrarse a la temperatura del compartimento de almacenamiento de reactivos del analizador antes de realizar el ensayo. Consulte la hoja de aplicación del analizador específico para obtener información adicional.

NOTA 4: para garantizar la estabilidad de la solución de EA reconstituída, protéjala de la exposición prolongada y continua a la luz brillante.

Conservar los reactivos a 2–8 °C. **NO CONGELAR.** Para conocer la estabilidad de los componentes sin abrir, consulte la fecha de caducidad en las etiquetas de la caja o del frasco.

Solución R1: 60 días refrigerada en el analizador o a 2–8 °C.

Solución R2: 60 días refrigerada en el analizador o a 2–8 °C.

Recogida y preparación de las muestras

Recoja las muestras de orina en recipientes de plástico o de vidrio. Debe extremarse el cuidado para mantener la integridad química de la muestra de orina desde el momento de su recogida hasta el del ensayo.

Las muestras mantenidas a temperatura ambiente que no se analicen en los 7 días¹¹ posteriores a su llegada al laboratorio deben conservarse en una unidad de refrigeración segura a entre 2 y 8 °C durante dos meses.¹² Para almacenarlas durante más tiempo antes del análisis o para la retención de muestras después del análisis, las muestras de orina deben almacenarse a -20 °C.^{12,13}

Los laboratorios que sigan las directrices obligatorias de la SAMHSA deben cumplir los requisitos de la SAMHSA sobre almacenamiento refrigerado a corto plazo y almacenamiento a largo plazo.⁹

Para proteger la integridad de la muestra, no induzca la formación de espuma y evite la congelación y descongelación repetidas. Debe hacerse todo lo posible para mantener las muestras pipeteadas libres de residuos macroscópicos. Se recomienda que las muestras muy turbias se centrifuguen antes del análisis. Las muestras congeladas deben descongelarse y mezclarse antes del análisis. La adulteración de las muestras de orina puede generar resultados erróneos. Si sospecha que la muestra puede estar adulterada, obtenga otra muestra y envíe ambas al laboratorio para su análisis.

Manipule todas las muestras de orina como si fueran potencialmente infecciosas.

Procedimiento del ensayo

Para realizar este ensayo, se pueden utilizar analizadores de bioquímica capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir las tasas enzimáticas y cronometrar la reacción con precisión. Puede solicitar a Microgenics, que forma parte de Thermo Fisher Scientific, las hojas de aplicación con los parámetros de los instrumentos específicos.

Control de calidad y calibración¹⁴

Análisis cualitativo

Para el análisis de las muestras, utilice el calibrador discriminador del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA. En el caso de otros analizadores, consulte la hoja de aplicación del analizador específico.

Análisis semicuantitativo

Para el análisis semicuantitativo de las muestras, utilice el calibrador negativo CEDIA y el calibrador discriminador del metabolito de la heroína CEDIA para analizar los resultados. Para todos los demás analizadores, consulte la hoja de aplicación específica del analizador. Vuelva a calibrar la prueba si se cambian los reactivos o si los resultados de los controles estuvieran fuera de los límites establecidos.

Las buenas prácticas de laboratorio sugieren el análisis de controles todos los días en los que se analicen muestras de los pacientes y siempre que se lleve a cabo una calibración. Se recomienda analizar dos controles, uno positivo y otro negativo. La evaluación de control de calidad debe basarse en los valores obtenidos para los controles, que deben estar dentro de los límites especificados. Si se detectan tendencias o cambios repentinos en los valores, revise todos los parámetros de funcionamiento. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente para obtener más ayuda. Todos los requisitos de control de calidad se han de realizar de conformidad con las regulaciones o requisitos de acreditación locales, estatales y/o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

El calibrador discriminador del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA (10 ng/ml) se utiliza como referencia para distinguir entre muestras positivas y negativas. Las muestras que den lugar a un valor de respuesta igual o mayor que el valor de respuesta del calibrador discriminador se consideran positivas. Las muestras que den lugar a un valor de respuesta menor que el valor de respuesta del calibrador discriminador se consideran negativas. Consulte la hoja de aplicación del analizador específico para obtener información adicional.

Resultados semicuantitativos

Puede utilizarse el calibrador discriminador del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA junto con el calibrador negativo DAU CEDIA para calcular la concentración relativa de 6-acetil morfina. Consulte la hoja de aplicación específica del analizador para obtener información detallada. Debe tenerse cuidado al presentar los resultados de la concentración ya que existen muchos otros factores que pueden influir en un análisis de orina.

Limitaciones

1. Un resultado positivo indica la presencia de 6-AM, pero no indica ni mide la intoxicación.
2. Existe la posibilidad de que otras sustancias y/o factores (p. ej., errores de la técnica o del procedimiento) pudiesen interferir con la prueba y dar lugar a resultados falsos.

Características específicas de funcionamiento

A continuación se muestran los resultados típicos de funcionamiento obtenidos en el analizador Hitachi 717¹⁵. Los resultados obtenidos en su laboratorio podrían ser distintos de estos datos.

Precisión

Los estudios de precisión de las mediciones, en los que se utilizaron reactivos, calibradores y controles envasados, arrojaron los siguientes resultados en mA/min con un analizador Hitachi 717 siguiendo el experimento de repeticiones modificado del NCCLS (6 repeticiones dos veces al día durante 10 días).

Resultados cualitativos del Hitachi 717

Utilizando el calibrador discriminador de 10 ng/ml	Precisión intraensayo		Precisión total	
	Media ± DE (mA/min)	% CV	Media ± DE (mA/min)	% CV
Control bajo (7,5 ng/ml)	437 ± 5,2	1,2	437 ± 6,4	1,5
Discriminatorio	467 ± 5,5	1,2	467 ± 8,0	1,7
Control alto (12,5 ng/ml)	494 ± 5,5	1,1	494 ± 8,3	1,7

Resultados semicuantitativos del Hitachi 717

Utilizando el calibrador discriminador de 10 ng/ml	Precisión intraensayo		Precisión total	
	Media ± DE (mA/min)	% CV	Media ± DE (mA/min)	% CV
Control bajo (7,5 ng/ml)	7,6 ± 0,41	5,32	7,6 ± 0,49	6,41
Discriminatorio	9,9 ± 0,42	4,27	9,9 ± 0,53	5,32
Control alto (12,5 ng/ml)	12,0 ± 0,43	3,55	12,0 ± 0,54	4,49

Exactitud

Se analizaron un total de 206 muestras de orina con el ensayo del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA en el analizador Hitachi 717 utilizando CG/EM como referencia. Los resultados fueron los siguientes:

		Ensayo CEDIA 6-AM con Hitachi	
		+	-
GC/MS	+	189	1*
	-	0	46

*La muestra contenía 10,7 ng/mL 6-acetil morfina por GC/MS.

Especificidad

Los siguientes compuestos originales, metabolitos y compuestos estructuralmente relacionados, analizados con el ensayo del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA, dieron lugar a resultados negativos en comparación con el calibrador discriminador (10 ng/ml):

Compuesto	Concentración analizada (ng/ml)
Codeína	500.000
Dextrometorfano	100.000
Dihidrocodeína	500.000
Heroína HCl	80
Hidrocodona	300.000
Hidromorfona	10.000
Imipramina	200.000
Levorfanol	10.000
Meperidina	800.000
Morfina	9.000
Morfina-3-glucurónido	600.000
Morfina-6-glucurónido	600.000
Nalorfina	7.000
Naloxona	300.000
Naltrexona	300.000
Norcodeína	600.000
Normorfina	30.000
Oxicodona	400.000
Oximorfona	80.000

Se procedió a analizar compuestos no relacionados estructuralmente mediante el ensayo del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA, y todos ellos produjeron una respuesta negativa a las concentraciones que se indican a continuación.

Compuesto	Concentración (ng/ml)	Compuesto	Concentración (ng/ml)
10,11-dihidrocabamazepina	85.000	Fluoxetina	500.000
11-nor- Δ^9 -THC-COOH	10.000	Haloperidol	100.000
Ácido acetilsalicílico	500.000	Hidroxicina	500.000
Ácido salicílico	500.000	Ibuprofeno	500.000
Amitriptilina	500.000	Levotiroxina	50.000
Amoxicilina	500.000	Metadona	500.000
Benzoilecgonina	100.000	Metanfetamina	500.000
Bromfeniramina	75.000	Metanosulfonato de benzotropina	500.000
Cafeína	500.000	Nifedipina	500.000
Captopril	500.000	Nordiazepam	100.000
Cimetidina	500.000	Oxazepam	250.000
Clordiazepóxido	100.000	Paracetamol	500.000
Clorpromacina	10.000	Perfenazina	150.000
Desipramina	500.000	Prociclidina	800.000
Diazepam	100.000	Propoxifeno	100.000
Difenhidramina	50.000	Protriptilina	200.000
Digoxina	100.000	Ranitidina	500.000
Doxepina HCl	100.000	Secobarbital	500.000
Enalapril	500.000	Tripolidina	50.000
Fenciclidina	30.000	Verapamilo	500.000
Fenobarbital	500.000		

Interferencias

No se observaron interferencias de las siguientes sustancias añadidas a la concentración endógena normal que se encuentra en la orina con el ensayo del metabolito de heroína (6-AM) CEDIA:

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Acetona	≤ 1,0 g/dl	γ-globulina	≤ 0,5 g/dl
Ácido ascórbico	≤ 1,5 g/dl	Glucosa	≤ 1,0 g/dl
Ácido oxálico	≤ 0,1 g/dl	Hemoglobina	≤ 0,3 mg/dl
Cloruro de sodio	≤ 6,0 g/dl	Riboflavina	≤ 7,5 mg/dl
Creatinina	≤ 0,5 g/dl	Seroalbúmina humana	≤ 0,5 g/dl
Etanol	≤ 1,0 g/dl	Urea	≤ 2,0 g/dl
Galactosa	≤ 10 mg/dl		

Bibliografía

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang, CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986: 73: 30-4.1
2. Balant LP, Balant-Gorgia AE. Opium and its derivatives. Clin. Ther. 1992; 14:846-848.
3. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 4th ed. Foster City, Calif.: Chemical Toxicology Institute; 1995.
4. Heroin: Abuse and Addiction. National Institute on Drug Abuse, Research Report Series, 1999; [http://www.nida.nih.gov:80/Research Reports/heroin/heroin2.html](http://www.nida.nih.gov:80/Research%20Reports/heroin/heroin2.html)
5. 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.
6. Cone EJ, Welch P, Mitchell JM, Paul BD. Forensic drug testing for opiates. I. Detection of 6-Acetyl Morphine in urine as an indicator of recent heroin exposure; drug and assay considerations and detection times. J. Anal. Toxicol. 1991; 15: 1-7.
7. Fuller DC, Anderson WH. A simplified procedure for the determination of free codeine, free morphine and 6-Acetyl Morphine in urine. J. Anal. Toxicol. 1992;16: 315-318.
8. Paul BD, Mitchell JM, Mell LD Jr., Irving I. Gas chromatography/electron impact mass fragmentometric determination of urinary 6-Acetylmorphine, a metabolite of heroin. J. Anal. Toxicol. 1989; 13 :2-7.
9. Department of Health and Human Services. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs: Final guidelines. Fed. Register 1994; 110 (June 9):11983. (Revised guidelines expected in 2002).
10. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et al. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32: 1637-1641.
11. Zaitso K, Miki A, Katagi M, Tsuchihashi H. Long-term stability of various drugs and metabolites in urine, and preventive measures against their decomposition with special attention to filtration sterilization. *Forensic Science Intl* 174 (2008) 189-196.
12. 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.
13. C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (April 2007).
14. Data on traceability are on file at Microgenics Corporation, a part of Thermo Fisher Scientific.
15. Data on file at Microgenics Corporation, a part of Thermo Fisher Scientific.

Glosario:

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



Microgenics Corporation,
part of Thermo Fisher Scientific
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 EE. UU.
Servicio técnico y de
asistencia al cliente en EE. UU.:
1-800-232-3342



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



Para conocer las actualizaciones de este folleto, visite:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:

Póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.

CEDIA es una marca registrada de Roche Diagnostics. Todas las demás marcas son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus filiales.