

Dosage du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA®

Thermo
SCIENTIFIC

IVD Pour usage diagnostique *in vitro*

Rx Only

REF 100107 (3 x 17 mL)
10015213 (kit Indiko de 3 x 17 mL)
100108 (kit de 65 mL)
100186 (kit de 495 mL)

Application

Le dosage immunoenzymatique homogène CEDIA® métabolite héroïne (6-acétylmorphine, ou 6-AM) permet la détermination qualitative et semi-quantitative de la présence de métabolite héroïne (6-AM) dans l'urine humaine sur des analyseurs automatiques de chimie clinique. Les mesures facilitent la détection de consommation d'héroïne ou de toxicomanie.

Il fournit uniquement un résultat d'analyse préliminaire. Une autre méthode chimique plus spécifique doit être utilisée pour obtenir un résultat d'analyse confirmé. La chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS) représente la méthode de confirmation privilégiée. Adopter un point de vue clinique et émettre un jugement professionnel pour tout résultat d'analyse de toxicomanie, notamment lorsque les résultats préliminaires sont positifs.

Résumé et explication du test

L'héroïne (3,6-diacétylmorphine) est produite par modification chimique de la morphine, un alcaloïde naturellement présent dans les cosses vertes du pavot à opium *Papaver somniferum*.^{2,3} Très toxicomane, elle est actuellement classée « Schedule I » (usage médical actuellement interdit). L'héroïne est l'opiacé le plus consommé,^{4,5} et est associée à un large spectre de problèmes de santé. Elle s'administre par injection intraveineuse ou sous-cutanée ou par insufflation nasale.³ Elle est rapidement métabolisée (demi-vie de 9 minutes) en 6-AM par les estérases du sang, puis en morphine par hydrolyse dans le foie.

La présence de 6-AM dans l'urine est considérée comme un marqueur spécifique de la consommation illicite d'héroïne.^{6,9} La 6-AM ne peut pas être formée par acétylation de la morphine dans le corps ; sa présence ne peut donc pas être due à une injection d'analgésiques opiacés légaux, ni à de grandes quantités de graines de pavot. Le Department of Health and Human Services (DHHS, Département de la Santé et des Services Sociaux) a donc élaboré un guide révisé pour l'analyse des opiacés, exigeant d'analyser tous les échantillons d'urine positifs aux opiacés à la recherche de 6-AM pour confirmer une toxicomanie à l'héroïne.⁹ La demi-vie de la 6-AM est d'environ 35 minutes. La durée pendant laquelle la mesure de 6-AM permet de diagnostiquer la consommation d'héroïne dépend de la quantité prise. Il semble que même à fortes doses d'héroïne, la durée de détection soit limitée à 24 heures suivant la consommation.⁹

Le dosage du métabolite de l'héroïne CEDIA fait appel à une technologie d'ADN recombinant (brevet américain n° 4708929) pour produire un système de dosage immunoenzymatique homogène unique.¹⁰ Ce dosage repose sur l'enzyme bactérienne β -galactosidase, qui a été génétiquement modifiée en deux fragments inactifs. Ces fragments, appelés accepteur d'enzyme (EA) et donneur d'enzyme (ED), se réassocient spontanément pour former une enzyme pleinement active qui, dans le format du dosage, isole un substrat, ce qui crée un changement de couleur pouvant être mesuré par spectrophotométrie.

Dans le dosage du métabolite de l'héroïne CEDIA, l'échantillon concurrence la 6-AM conjuguée à l'ED pour le site de fixation des anticorps. Si la 6-AM est présente dans l'échantillon, elle se lie à l'anticorps, laissant le conjugué ED-6-AM libre de se réassocier à l'EA pour former de la β -galactosidase active. En l'absence de 6-AM dans l'échantillon, l'anticorps se lie au conjugué ED-6-AM, ce qui inhibe la réassociation des fragments de β -galactosidase actifs, réduisant ainsi la quantité d'enzyme active formée. Cette quantité d'enzyme et le changement d'absorbance en résultant sont proportionnels à la quantité de 6-AM dans l'échantillon.

Réactifs

- 1 Tampon de reconstitution EA** : Contient 0,32 mg/L d'anticorps monoclonaux de souris réagissant avec la 6-acétylmorphine, des sels tampons, un détergent et un conservateur.
- 1a Réactif EA** : Contient 0,171 g/L d'accepteur d'enzyme, des sels tampons, un détergent et un conservateur.
- 2 Tampon de reconstitution ED** : Contient des sels tampons et un conservateur.
- 2a Réactif ED** : Contient 16,2 μ g/L de donneur d'enzyme conjugué à de la 6-acétylmorphine, 1,67 g/L de rouge de chlorophénol- β -D galactopyranoside, un stabilisant et un conservateur.

Matériels supplémentaires : Étiquettes à codes-barres alternatives (réf. 100107 et 100108. Consulter la fiche de l'application spécifique à l'analyseur pour obtenir des instructions d'utilisation). Flacons d'analyseur vides pour transfert de solutions EA/ED (réf. 100108). Flacons d'analyseur vides pour transfert de solutions ED (réf. 100186 uniquement).

Matériels supplémentaires requis (vendus séparément) :

1557416	Étalon négatif CEDIA, 5 mL
1661388	Étalon négatif CEDIA, 10 mL
100031	Étalon seuil du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA, 5 mL
100034	Étalon élevé du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA, 5 mL
100202	Jeu de contrôles MGC Select, 3 x 5 mL

⚠ Précautions et avertissements

- Ce test est exclusivement réservé à un usage diagnostique *in vitro*. Les réactifs sont nocifs en cas d'ingestion.
- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date de péremption.

DANGER : Le réactif sous forme de poudre contient ≤ 55 % en poids d'albumine bovine (AB) et ≤ 1 % en poids d'azote de sodium. Le réactif liquide contient $\leq 0,5$ % de sérum bovin (SBF), $\leq 0,15$ % d'azote de sodium et $< 0,1$ % d'anticorps spécifiques à la drogue (souris).

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

H334 - Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.

EUH032 - Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.

Éviter d'inhaler de la poussière/buée/vapeurs/vaporisation. Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. Porter des gants de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. Lorsque la ventilation du local est insuffisante, porter un équipement de protection respiratoire. En cas de contact avec la peau : laver abondamment à l'eau et au savon. EN CAS D'INHALATION : s'il y a difficulté à respirer, transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin. En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin. Laver les vêtements contaminés avant réutilisation. Éliminer le contenu/contenant dans un endroit conforme aux réglementations locales/régionales/nationales/internationales.

Préparation et conservation des réactifs

Voir ci-dessous concernant la préparation des solutions pour analyseurs Hitachi. Pour tous les autres analyseurs, consulter la fiche de l'application correspondante.

Retirer le kit du réfrigérateur juste avant de préparer les solutions.

Préparer les solutions dans l'ordre suivant pour limiter le risque de contamination :

Solution de donneur d'enzyme R2 : Connecter le flacon 2a (réactif ED) au flacon 2 (tampon de reconstitution ED) en utilisant l'un des adaptateurs fournis. Mélanger par retournement délicat, en s'assurant que l'ensemble du matériel lyophilisé du flacon 2a est transféré dans le flacon 2. Éviter de former de la mousse. Déconnecter le flacon 2a et l'adaptateur du flacon 2 et les jeter. Remettre le capuchon sur le flacon 2 et laisser reposer pendant 5 minutes environ à température ambiante (15-25 °C). Mélanger de nouveau. Inscrive la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Solution d'accepteur d'enzyme R1 : Connecter le flacon 1a (réactif EA) au flacon 1 (tampon de reconstitution EA) en utilisant l'un des adaptateurs fournis. Mélanger par retournement délicat, en s'assurant que l'ensemble du matériel lyophilisé du flacon 1a est transféré dans le flacon 1. Éviter de former de la mousse. Déconnecter le flacon 1a et l'adaptateur du flacon 1 et les jeter. Remettre le capuchon sur le flacon 1 et laisser reposer pendant 5 minutes environ à température ambiante (15-25 °C). Mélanger de nouveau. Inscrive la date de reconstitution sur l'étiquette du flacon.

Analyseur Hitachi 717, 911, 912 ou 914 (réf. 100108) : Transférer les réactifs reconstitués dans les flacons R1 et R2 de 100 mL vides fournis dans le kit. **Analyseur Hitachi 917/système d'analyse modulaire P** : Utiliser les réactifs reconstitués sans transfert de flacons. Éliminer les flacons de 100 mL vides.

Analyseur Hitachi 747/système d'analyse modulaire D (réf. 100186) : Utiliser l'entonnoir fourni pour transférer une partie de la solution R2 dans le flacon de solution R2 vide fourni et correctement étiqueté.

REMARQUE 1 : Les composants fournis dans ce kit sont destinés à être utilisés sous forme d'un tout. Ne pas mélanger les composants de différents lots.

REMARQUE 2 : Éviter toute contamination croisée des réactifs en associant les bouchons aux flacons de réactif qui conviennent. La solution R2 doit être de couleur jaune-orangée. Une couleur rouge foncé ou pourpre indique que le réactif a été contaminé et qu'il doit être éliminé.

REMARQUE 3 : Les solutions R1 et R2 doivent être à la température de conservation du compartiment des réactifs de l'analyseur avant de procéder au dosage. Consulter la fiche spécifique de l'analyseur pour de plus amples informations.

REMARQUE 4 : Pour garantir la stabilité de la solution EA reconstituée, la protéger de toute exposition prolongée et continue à une lumière intense.

Conservé les réactifs entre 2 et 8 °C. **NE PAS CONGELER**. Concernant la stabilité des composants non ouverts, consulter les étiquettes indiquant la date de péremption sur le carton ou le flacon.

Solution R1 : 60 jours réfrigérés sur l'analyseur ou entre 2 et 8 °C.

Solution R2 : 60 jours réfrigérés sur l'analyseur ou entre 2 et 8 °C.

Prélèvement et préparation des échantillons

Recueillir les échantillons d'urine dans des récipients en verre ou en plastique. Prendre toutes les précautions requises pour préserver l'intégrité chimique de l'échantillon d'urine entre le moment du prélèvement et celui du dosage.

Les échantillons conservés à température ambiante et qui ne font pas l'objet d'un test initial dans les 7 jours¹¹ suivants leur arrivée au laboratoire peuvent être placés dans une unité de réfrigération sécurisée entre 2 et 8 °C pendant deux mois.¹² Pour un stockage avant analyse plus long ou pour une conservation après analyse, les échantillons d'urine doivent être conservés à -20 °C.^{12,13}

Les laboratoires suivant les directives obligatoires de la SAMHSA doivent consulter ses exigences en matière de conservation réfrigérée à court et long termes.⁹

Afin de préserver l'intégrité de l'échantillon, ne pas faire mousser et éviter la congélation et la décongélation répétées. Il convient de veiller à éviter la présence de débris conséquents dans les échantillons prélevés. Il est recommandé de centrifuger les échantillons à forte turbidité avant analyse. Avant d'être analysés, les échantillons congelés doivent être décongelés et mélangés. La falsification d'un échantillon d'urine peut engendrer des résultats erronés. En cas de falsification soupçonnée, prélever un autre échantillon et les transférer tous deux au laboratoire pour analyse.

Manipuler tous les échantillons d'urine comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

Procédure de dosage

Les analyseurs de chimie clinique en mesure de maintenir une température constante, pipeter des échantillons, mélanger des réactifs, mesurer des taux enzymatiques et prévoir la réaction avec précision peuvent être utilisés pour effectuer ce dosage. Les fiches d'application présentant les paramètres spécifiques des instruments sont disponibles auprès de Microgenics, une division de Thermo Fisher Scientific.

Contrôle qualité et étalonnage¹⁴

Analyse qualitative

Pour analyser les échantillons, utiliser l'étalon seuil de métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA. Pour tous les autres analyseurs, consulter la fiche d'application correspondante.

Analyse semi-quantitative

Utiliser le CEDIA Étalon négatif et le CEDIA Métabolite de l'héroïne Étalon seuil pour analyser les résultats d'une analyse semi-qualitative des échantillons. Pour tous les autres analyseurs, se reporter à la fiche de travail spécifique correspondante. Procéder à un nouvel étalonnage en cas de changement de réactifs ou si les résultats des contrôles dépassent les limites fixées.

Les bonnes pratiques de laboratoire suggèrent de tester les contrôles tous les jours où des échantillons patient sont analysés et à chaque fois qu'un étalonnage est effectué. Il est recommandé de traiter deux contrôles : un positif et un négatif. Baser l'évaluation du contrôle qualité sur les valeurs obtenues pour les contrôles, qui doivent se situer dans les limites indiquées. Si des tendances ou des décalages soudains des valeurs sont détectés, revoir tous les paramètres de fonctionnement. Contacter l'assistance technique pour obtenir une aide complémentaire. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être satisfaites conformément aux règlements locaux, régionaux et/ou nationaux ou aux exigences d'agrément.

Résultats et valeurs attendues

Résultats de l'analyse qualitative

L'étalon seuil de métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA (10 ng/mL) sert de référence pour distinguer les échantillons positifs des échantillons négatifs. Les échantillons produisant une valeur réactionnelle égale ou supérieure à celle de l'étalon seuil sont considérés comme positifs. Ceux qui produisent une valeur réactionnelle inférieure à celle de l'étalon seuil sont considérés comme négatifs. Se reporter à la fiche de l'application spécifique à l'analyseur pour de plus amples informations.

Résultats semi-quantitatifs

Le CEDIA Métabolite de l'héroïne (6-AM) Étalon seuil peut être utilisé avec le CEDIA DAU Étalon négatif pour estimer la concentration relative de 6-acétylmorphine. Se reporter à la fiche de travail spécifique à l'analyseur pour de plus amples informations.

Lors de la communication des résultats concernant la concentration, veiller à tenir compte des nombreux autres facteurs pouvant influencer un test urinaire.

Limites

- Un résultat de test positif indique la présence de 6-AM, mais n'indique pas une intoxication et ne la mesure pas.
- Il est possible que d'autres substances et/ou facteurs (par ex. erreurs techniques ou de procédure) non répertoriés dans le tableau de spécificité interfèrent avec le test et faussent le résultat.

Caractéristiques de performance spécifiques

Les données de performance déduites des résultats obtenus sur l'analyseur Hitachi 717 sont présentées ci-dessous.¹⁵ Les résultats obtenus dans le laboratoire peuvent diverger.

Précision

Les études de précision mesurée, qui emploient des réactifs, étalons et contrôles conditionnés, ont produit les résultats suivants (en mA/min) sur l'analyseur Hitachi 717, conformément à l'expérience à répétition modifiée du NCCLS (6 répétitions deux fois par jour pendant 10 jours).

Analyse qualitative sur Hitachi 717

En utilisant l'étalon seuil de 10 ng/mL	Précision intra-test		Précision totale	
	Moyenne ± ET (mA/min)	% CV	Moyenne ± ET (mA/min)	% CV
Contrôle bas (7,5 ng/mL)	437 ± 5,2	1,2	437 ± 6,4	1,5
Seuil	467 ± 5,5	1,2	467 ± 8,0	1,7
Contrôle élevé (12,5 ng/mL)	494 ± 5,5	1,1	494 ± 8,3	1,7

Analyse semi-quantitative sur Hitachi 717

En utilisant l'étalon seuil de 10 ng/mL	Précision intra-test		Précision totale	
	Moyenne ± ET (mA/min)	% CV	Moyenne ± ET (mA/min)	% CV
Contrôle bas (7,5 ng/mL)	7,6 ± 0,41	5,32	7,6 ± 0,49	6,41
Seuil	9,9 ± 0,42	4,27	9,9 ± 0,53	5,32
Contrôle élevé (12,5 ng/mL)	12,0 ± 0,43	3,55	12,0 ± 0,54	4,49

Exactitude

Au total, 206 échantillons d'urine ont été dosés avec le dosage du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA sur l'analyseur Hitachi 717 selon la méthode GC/MS à titre de référence. Les résultats sont les suivants :

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

*L'échantillon contenait 10,7 ng/mL de 6-acétylmorphine selon la méthode GC/MS.

Spécificité

Les composants parents, métabolites et composants structurellement apparentés suivants ont produit des résultats négatifs par rapport à l'étalon seuil (10 ng/mL) lorsqu'ils ont été testés avec le dosage du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA :

Composant	Concentration testée (ng/mL)
Codéine	500 000
Dextrométhorphan	100 000
Dihydrocodéine	500 000
Héroïne HCl	80
Hydrocodone	300 000
Hydromorphone	10 000
Imipramine	200 000
Lévorphanone	10 000
Mépipéridine	800 000
Morphine	9 000
Morphine-3-glycuroconjugée	600 000
Morphine-6-glycuroconjugée	600 000
Nalorphine	7 000
Naloxone	300 000
Naltrexone	300 000
Norcodéine	600 000
Normorphine	30 000
Oxycodone	400 000
Oxymorphone	80 000

Des composants qui ne sont pas structurellement apparentés ont été testés avec le dosage du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA et ont produit un résultat négatif lorsqu'ils ont été testés aux concentrations répertoriées ci-dessous.

Composant	Concentration (ng/mL)	Composant	Concentration (ng/mL)
10, 11-dihydrocarbamazepine	85 000	Halopéridol	100 000
11-nor- Δ^9 -THC-COOH	10 000	Hydroxyzine	500 000
Acide acétylsalicylique	500 000	Ibuprofène	500 000
Acide salicylique	500 000	Lévothyroxine	50 000
Amitriptyline	500 000	Méthadone	500 000
Amoxicilline	500 000	Méthamphétamine	500 000
Benzotropine méthanesulfonate	500 000	Nifédipine	500 000
Benzoylécgonine	100 000	Nordiazépam	100 000
Bromphéniramine	75 000	Oxazépam	250 000
Caféine	500 000	Paracétamol	500 000
Captopril	500 000	Perphénazine	150 000
Chlordiazépoxyde	100 000	Phencyclidine	30 000
Chlorpromazine	10 000	Phénobarbital	500 000
Cimétidine	500 000	Procyclidine	800 000
Désipramine	500 000	Propoxyphène	100 000
Diazépam	100 000	Protriptyline	200 000
Digoxine	100 000	Ranitidine	500 000
Diphénhydramine	50 000	Sécobarbital	500 000
Doxépine HCl	100 000	Triprolidine	50 000
Énalapril	500 000	Vérapamil	500 000
Fluoxétine	500 000		

Interférence

Aucune interférence n'a été observée avec les substances suivantes, qui ont été ajoutées aux concentrations endogènes normales présentes dans l'urine lorsqu'elles ont été testées avec le dosage du métabolite de l'héroïne (6-AM) CEDIA :

Substance	Concentration	Substance	Concentration
Acétone	≤ 1,0 g/dL	γ -globuline	≤ 0,5 g/dL
Acide ascorbique	≤ 1,5 g/dL	Glucose	≤ 1,0 g/dL
Acide oxalique	≤ 0,1 g/dL	Hémoglobine	≤ 0,3 mg/dL
Chlorure de sodium	≤ 6,0 g/dL	Riboflavine	≤ 7,5 mg/dL
Créatinine	≤ 0,5 g/dL	Sérum albumine humaine	≤ 0,5 g/dL
Éthanol	≤ 1,0 g/dL	Urée	≤ 2,0 g/dL
Galactose	≤ 10 mg/dL		

Bibliographie

- Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang, CN, eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986; 73: 30-4.1
- 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.
- 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)
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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).
- Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et al. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32: 1637-1641.
- Zaitu 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.
- 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).
- Data on traceability are on file at Microgenics Corporation, a part of Thermo Fisher Scientific.
- Data on file at Microgenics Corporation, a part of Thermo Fisher Scientific.

Glossaire :

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



Microgenics Corporation,
part of Thermo Fisher Scientific
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 États-Unis
Service après-vente et
assistance technique aux États-Unis :
1-800-232-3342



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



Pour obtenir les dernières notices à jour, consulter le site :
www.thermoscientific.com/diagnostics

Autres pays :

Contactez un représentant Thermo Fisher Scientific local.

CEDIA est une marque déposée de Roche Diagnostics. Toutes les autres marques appartiennent à Thermo Fisher Scientific et à ses filiales.