

DRI® Methadone Metabolite Assay

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF 10018522 (Kit mit 3 x 18 ml)
100115 (Kit mit 100 ml)
100116 (Kit mit 500 ml)

Verwendungszweck

Der DRI®-Methadonmetabolit-Assay ist zur qualitativen und semiquantitativen Bestimmung des Methadonmetaboliten EDDP (2-Ethyliden-1, 5-dimethyl-3, 3-diphenylpyrrolidin) in menschlichem Urin bei einem Cutoff-Wert von 1000 ng/ml vorgesehen. Der semiquantitative Bereich des Assays beträgt 31 bis 2000 ng/ml. Der Assay bietet eine einfache und schnelle Möglichkeit zum Nachweis des Methadonmetaboliten in menschlichem Urin.

Dieser Assay liefert nur ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Zur Bestätigung der analytischen Ergebnisse muss ein spezifischeres chemisches Verfahren verwendet werden. Die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) und) ist das für diesen Zweck bevorzugte Verfahren.¹² Bei jedem Drogentest sollten klinisches Urteilsvermögen und fachliche Bewertung zur Anwendung kommen, insbesondere bei vorläufigen positiven Ergebnissen.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Methadon ist ein synthetisches Opiat, welches das Verlangen nach Heroin wirkungsvoll unterdrückt, ohne dessen euphorisierende Wirkung hervorzurufen. Methadon wird häufig in Entzugsprogrammen angewendet, um Heroinabhängige zu entgiften und zu unterstützen. Die Compliance ist bei der Methadonbehandlung von entscheidender Bedeutung und kann wirkungsvoll durch Urintests auf Methadon und dessen Metaboliten überwacht werden.

Der Mechanismus des Methadonmetabolismus ist gut erforscht. Methadon wird nach der Einnahme rasch von der Leber durch N-Demethylierung in Normmethadon metabolisiert. Normmethadon wird selten erkannt, weil es leicht zur Bildung von EDDP dehydriert,^{3,4} dem Hauptmetaboliten von Methadon. Durch die weitere Demethylierung von EDDP wird 2-Ethyl-5-Methyl-3,3-diphenyl-1-pyrrolin (EMDP) gebildet. Dabei handelt es sich um den Nebenmetaboliten von Methadon, der in geringeren Konzentrationen vorkommt.⁵

Derzeit stehen verschiedene Immunoassay-Techniken für die Überwachung der Methadon-Compliance zur Verfügung.^{6,7} Allerdings messen diese Test lediglich die Muttersubstanz (d. h. Methadon) und können zu „falsch-positiven Ergebnissen“ bei Abhängigen führen, die ihren Urin mit einer geringen Methadonmenge versetzen. Daher ist oft eine Bestätigung des Vorhandenseins von EDDP durch eine Dünnschichtchromatographie (TLC) oder Gaschromatographie (GC) erforderlich. Sowohl die TLC als auch die GC⁸ sind aufwendige Verfahren und von erheblichen Störungen betroffen. Ein Immunoassay zum Nachweis von EDDP im Urin ermöglicht weit verbreitete Tests auf Compliance und schließt die Möglichkeit aus, in Kliniken, in denen der Urin unbeaufsichtigt gesammelt werden darf, diesen mit Methadon zu versetzen.⁸

Der DRI-Methadonmetabolit-Assay verwendet flüssige gebrauchsfertige Reagenzien und Kalibratoren.⁹ Im Assay kommen spezifische Antikörper zum Einsatz, die EDDP im menschlichen Urin ohne Kreuzreaktivität zur Muttersubstanz Methadon nachweisen können. Der Assay basiert auf der Konkurrenz eines Wirkstoffs, der mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) markiert wurde, und freiem Wirkstoff aus der Urinprobe um eine feste Menge von spezifischen Antikörper-Bindungsstellen. In Abwesenheit von freiem Wirkstoff aus der Probe bindet der spezifische Antikörper den mit G6PDH markierten Wirkstoff und verursacht eine Abnahme der Enzymaktivität. Dieses Phänomen erzeugt eine direkte Beziehung zwischen der Wirkstoffkonzentration im Urin und der Enzymaktivität. Die Enzymaktivität wird spektrophotometrisch bei 340 nm durch Messung von deren Fähigkeit zur Umwandlung von Nicotinamidadeninucleotid (NAD) in NADH bestimmt.

Reagenzien

Antikörper-/Substrateagens (R1):

Enthält monoklonalen murinen Antikörper gegen EDDP, Glucose-6-Phosphat (G6P), sowie Nicotinamidadeninucleotid (NAD) in Tris-Puffer mit Natriumazid als Konservierungsstoff.

Enzymkonjugatereagens (R2):

Enthält EDDP-Derivat, das mit Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase (G6PDH) markiert ist, in Tris-Puffer mit Natriumazid als Konservierungsstoff.

Zusätzlich erforderliches Material (separat erhältlich):

REF	Beschreibung des Kits
1664	DRI-Negativkalibrator, 10 ml
1388	DRI-Negativkalibrator, 25 ml
100117	DRI-Methadonmetabolit-Kalibrator 150 ng/ml, 10 ml
100118	DRI-Methadonmetabolit-Kalibrator 300 ng/ml, 10 ml
100120	DRI-Methadonmetabolit-Kalibrator 1000 ng/ml, 10 ml
100122	DRI-Methadonmetabolit-Kalibrator 2000 ng/ml, 10 ml
100200	MGC Primary DAU-Kontrollset

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

Die Reagenzien des Assays enthalten ≤0,09 % Natriumazid. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Weitere Vorsichtsmaßnahmen, Anweisungen zur Handhabung und Informationen zu den Maßnahmen bei versehentlicher Exposition sind im Sicherheitsdatenblatt zu finden.

GEFAHR: Die Reagenzien enthalten ≤ 0,2 % Rinderserumalbumin (BSA) und ≤0,5 % wirkstoffspezifische Antikörper (Maus). Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Nicht einatmen. Kann Hautreizungen oder bei Einatmen allergische Reaktionen verursachen. Weitere Vorsichtsmaßnahmen, Anweisungen zur Handhabung und Informationen zu den Maßnahmen bei versehentlicher Exposition sind im Sicherheitsdatenblatt zu finden.

H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 – Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

Einatmen von Nebel oder Dampf 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 Lagerung der Reagenzien

Die Reagenzien sind gebrauchsfertig, es ist keine zusätzliche Vorbereitung erforderlich. Die Reagenzien müssen gekühlt gelagert werden. Alle Assay-Komponenten, geöffnete ebenso wie ungeöffnete, sind bis zu dem auf dem jeweiligen Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums dürfen die Reagenzien nicht mehr verwendet werden.

Falls Material versehentlich verschüttet wird, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.

Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe Rückseite dieser Packungsbeilage).

Probennahme und -handhabung

Sammeln Sie Urinproben stets in Kunststoffbehältern oder Glasgefäßen.

Urinproben, die bei Raumtemperatur aufbewahrt und innerhalb von 7 Tagen¹⁰ nach der Ankunft im Labor keinem Eingangstest unterzogen werden, können zwei Monate lang in einer sicheren Kälteeinheit bei 2 bis 8 °C gelagert 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 „Kurzzeitigen 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 eingetribbe Proben vor der Analyse zu zentrifugieren. Tiefgekühlte Proben 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 Immunoassays können Analysegeräte für die klinische Chemie verwendet werden, die funktional in der Lage sind, die Temperatur konstant zu halten, Proben zu pipettieren, Reagenzien zu mischen, die Geschwindigkeit der Enzymaktivitäten bei 340 nm zu messen und die Reaktionszeiten genau einzuhalten.

Vor der Durchführung des Assays sind die anwendungsspezifischen Anweisungen für das jeweilige Analysegerät und die entsprechenden Angaben zu den chemischen Parametern zu beachten.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung¹⁴

Qualitative Analyse

Für die qualitative Analyse von Proben den 1000-ng/ml-Kalibrator als Cutoff-Konzentration verwenden. Der Cutoff-Kalibrator dient als Referenz für die Unterscheidung zwischen „positiven“ und „negativen“ Proben.

Semiquantitative Analyse

Für die semiquantitative Analyse sollten alle Kalibratoren verwendet werden.

Gute Laborpraxis sieht vor, Kontrollproben zu untersuchen, um sicherzustellen, dass der Assay richtige Ergebnisse liefert. Zur Validierung der Kalibration sollten Kontrollen verwendet werden, deren Konzentration in der Nähe des Cutoff-Kalibrators liegt. Die Kontrollergebnisse müssen innerhalb der vom Labor festgelegten Bereiche liegen. Die Assay-Ergebnisse sind ungültig, wenn die Kontrollergebnisse außerhalb dieser festgelegten Bereiche liegen. Alle Qualitätskontrollen müssen in Übereinstimmung mit den örtlichen, Landes- und/oder Bundesvorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden. Derzeit gibt es von der SAMHSA keine Empfehlung bezüglich der Konzentration des Cutoff-Kalibrators. Der Bundesstaat Kalifornien hat eine Cutoff-Konzentration von 1000 ng/ml empfohlen.

Ergebnisse und erwartete Werte

Qualitative Ergebnisse

Eine Probe gilt als positiv, wenn der Extinktionsunterschied (ΔA) mindestens so groß wie der mit dem Cutoff-Kalibrator erhaltene Wert ist. Eine Probe gilt als negativ, wenn der Extinktionsunterschied (ΔA) kleiner als der mit dem Cutoff-Kalibrator erhaltene Wert ist.

Semiquantitative Ergebnisse

Die Wirkstoffkonzentration in den Proben lässt sich grob abschätzen, indem mit den entsprechenden Kalibratoren eine Standardkurve erstellt wird und die Proben anschließend relativ zur Standardkurve quantitativ bewertet werden. Sollte die Probenkonzentration über der höchsten verwendeten Kalibratorkonzentration liegen, kann die Probe mit negativem Urin verdünnt und nochmals untersucht werden.

Einschränkungen

1. Ein positives Testergebnis zeigt lediglich das Vorhandensein von EDDP an und muss nicht unbedingt mit dem Ausmaß der physiologischen und psychologischen Effekte korrelieren.
2. Andere Substanzen und/oder Faktoren, die nicht in der Spezifitätsstudie untersucht wurden (z. B. technische Fehler oder Fehler bei der Durchführung des Tests), können als Störfaktoren wirken und zu falschen Ergebnissen führen.

Typische Leistungsdaten

Typische, mit dem Analysegerät Hitachi 717 erhaltene Leistungsdaten werden unten gezeigt.¹⁵ Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erhaltenen Ergebnisse von diesen Werten.

Präzision

Der Cutoff-Kalibrator und die Kontrollen (750 und 1250 ng/ml) wurden im qualitativen (mA/min) und semiquantitativen (ng/ml) Modus unter Befolgung der abgeänderten NCCLS-Richtlinien getestet. Der Cutoff-Kalibrator und die Kontrollen wurden in Replikaten von 6 an 10 Tagen zweimal täglich getestet.

Qualitativ:

Kalibrator/Kontrolle (n = 20)	Intraassay			Interassay		
	\bar{x} (mA/min)	SD	VK (%)	\bar{x} (mA/min)	SD	VK (%)
Negative Kontrolle (750 ng/ml)	426	2,7	0,6	426	3,1	0,7
Cutoff-Kalibrator (1000 ng/ml)	456	3,1	0,7	456	3,2	0,7
Positive Kontrolle (1250 ng/ml)	480	2,7	0,6	480	3,1	0,6

Semiquantitativ:

Kalibrator/Kontrolle (n = 20)	Intraassay			Interassay		
	\bar{x} (mA/min)	SD	VK (%)	\bar{x} (mA/min)	SD	VK (%)
Negative Kontrolle (750 ng/ml)	763	19,7	2,6	763	22,1	2,9
Cutoff-Kalibrator (1000 ng/ml)	1016	23,6	2,3	1016	25,7	2,5
Positive Kontrolle (1250 ng/ml)	1270	34,7	2,7	1270	36,8	2,9

Sensitivität

Die Sensitivität, die als die geringste Konzentration definiert ist, die mit einem Konfidenzintervall von 95 % vom Negativkalibrator unterschieden werden kann, beträgt 31 ng/ml.

Genauigkeit

Insgesamt 150 klinische Proben von Patienten aus Methadonprogrammen wurden mit dem DRI-Methadonmetabolit-Assay und mittels GC/MS getestet. Der Vergleich der Ergebnisse der beiden Verfahren führte zu einer linearen Regressionsgleichung von $y = 0,87x - 2,3$, und der Korrelationskoeffizient (r) betrug 0,994. Die Konkordanz (d. h. die klinische Übereinstimmung beider Verfahren bei der Identifizierung einer Probe als positiv oder negativ) betrug zwischen dem Assay und GC/MS mehr als 95 %. Die Daten werden nachfolgend gezeigt:

Qualitativ

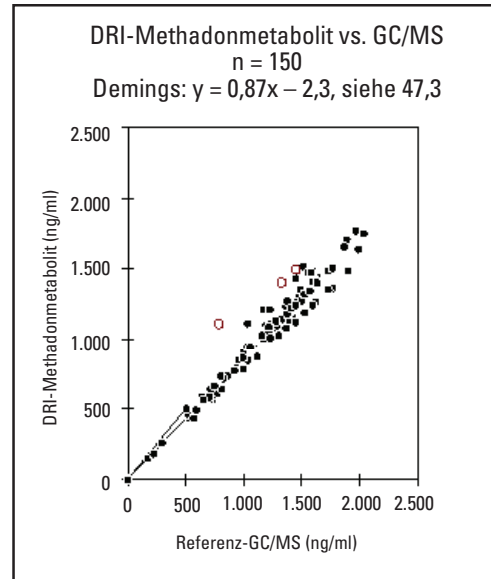
		DRI-Methadonmetabolit-Assay	
		+	-
GC/MS	+	69	5**
	-	0	76

Semiquantitativ

		DRI-Methadonmetabolit-Assay	
		+	-
GC/MS	+	69	7**
	-	1†	73

** Die GC/MS-Ergebnisse lassen erkennen, dass diese Proben 1014–1208 ng/ml EDDP enthalten (d. h. die Konzentrationen in etwa beim festgelegten Cutoff-Wert liegen).

† Das GC/MS-Ergebnis lässt erkennen, dass diese Probe 790 ng/ml EDDP enthält.



Spezifität

Die Spezifität des Assays wurde durch Testen der Muttersubstanz und deren Metaboliten bewertet. Außerdem wurden andere, häufig in Urinproben vorkommende Verbindungen getestet.

Methadon und dessen Metaboliten führten in den unten aufgelisteten Konzentrationen zu negativen Ergebnissen.

Verbindung	Konzentration (ng/ml)
Methadon	35.000.000
EMDP	200.000
LAAM-HCL	100.000
Nor-LAAM-HCL	100.000

Die folgenden Verbindungen führten in den angegebenen Konzentrationen bei Verwendung des 1000-ng/ml-Cutoff-Kalibrators zu negativen Ergebnissen:

Verbindung	ng/ml	Verbindung	ng/ml
Acetaminophen	1.000.000	Ibuprofen	500.000
Acetylsalicylsäure	1.000.000	Ketamin	1.000.000
Amphetamin	1.000.000	Levothyroxin	500.000
Benzoyllecgonin	1.000.000	Meperidin	1.000.000
Koffein	100.000	d-Methamphetamin	100.000
Captopril	500.000	L-Methamphetamin	100.000
Chlordiazepoxid	100.000	Morphin	1.000.000
Cimetidin	500.000	Oxazepam	500.000
Kokain	200.000	Phencyclidin	500.000
Codein	1.000.000	Phenobarbital	1.000.000
Dextromethorphan	300.000	Phentermin	1.000.000
Diazepam	100.000	Promethazin	100.000
Diphenhydramin	500.000	Propoxyphen	1.000.000
Disopyramid	1.000.000	Ranitidin	500.000
Doxylamin	500.000	Salicylsäure	500.000
Ephedrin	1.000.000	Secobarbital	1.000.000
Fluoxetin	500.000	11-Nor-Δ ⁹ -THC-9-COOH	10.000

Interferenz

Verschiedene endogene und exogene Substanzen wurden auf mögliche Interferenz mit dem Methadonmetabolit-Assay untersucht. Bei Urinproben, die Verbindungen in maximal den unten genannten Konzentrationen enthielten, wurde keine Interferenz beobachtet. Der pH-Wert der Urinprobe wurde ebenfalls auf mögliche Interferenz untersucht.

Verbindung	Konzentration	Verbindung	Konzentration
Acetaminophen	100 µg/ml	Glucose	3000 mg/dl
Aceton	1000 mg/dl	Hämoglobin	150 mg/dl
Ascorbinsäure	1000 mg/dl	Humanserumalbumin	500 mg/dl
Aspirin	100 µg/ml	Ibuprofen	100 µg/ml
Koffein	100 µg/ml	Oxalsäure	100 mg/dl
Kreatinin	500 mg/dl	pH-Bereich	3–11
Ethanol	1 g/dl	Riboflavin	7,5 mg/dl
Galactose	10 mg/dl	Natriumchlorid	1 g/dl
γ-Globulin	500 mg/dl	Harnstoff	1,25 g/dl

Literaturverweise

1. "Urine Testing for Drug of Abuse". National Institute on Drug Abuse (NIDA) Research Monograph 73 (1986).
2. "Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs". National Institute on Drug Abuse. Federal Register Vol. 53, No 69, pp11970 (1988).
3. Pohland A, Boaz HE and HR Sullivan. Synthesis and Identification of Metabolites Resulting from the Biotransformation of d,-l-Methadone in Man and in Rat. J Med Chem 14: 194-197 (1971).
4. Baselt RC and LJ Casarett. Urinary Excretion of Methadone in Man. Clin Phrm Theap 13: 64-70 (1971).
5. Randall C. Baselt and Robert H. Cravey. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. pp 472-475 4th Ed. Chemical Toxicology Institute. (1995).
6. Ferrara SD. Comparison of GLC-EMIT analysis for the Assay of Methadone and its Metabolite in Urine. Vet Hum Toxicology 21(suppl): 169-172 (1979).
7. Roerig DL et al. Radioimmunoassay Compared to Thin-Layer and Gas-Liquid Chromatography for Detecting Methadone in Human Urine. Clin Chem 22: 1915-1918 (1976).
8. Golman FR and CI Thistle. Diversion of Methadone: Illicit Methadone Use among Applicants to Two Metropolitan Drug Abuse program. Intl J Addictions, 13: 855-862 (1978).
9. Rubenstein KE, Schneider RS, and EF Ullman. "Homogenous Enzyme Immunoassay: A New Immunochemical Technique". Biochem Biophys Res Commun 47, 846, (1972).
10. Moody DE, Alburges ME, Huang W, Foltz RL. Analysis of Methadone and its N-Demethylation Metabolites by GC-PLCI-MS: Applications for Human Plasma, Urine and In Vitro Metabolism. *Journal of Analytical Toxicology*, Vol 21, January/February, 1997.
11. Gonzales E, Ng G, Pesce A, West C, West R, Mikel C, Llaatyshv, S, Almazan P. Stability of painrealted medications, metabolites and illicit substances in urine. *Clinica Chimca Acta* 416: (2013) 30-35.
12. C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (April 2007).
13. *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.
14. Data on traceability are on file at Microgenics, a part of Thermo Fisher Scientific.
15. Data on file at Microgenics, a part of Thermo Fisher Scientific.

Glossar:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundenbetreuung und technischer
Support in den USA:
1-800-232-3342



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



Aktualisierungen der Packungsbeilage finden Sie unter:
www.thermofisher.com/diagnostics

Andere Länder:

Bitte wenden Sie sich an die Thermo Fisher Scientific-Vertretung in Ihrer Region.

10006869-9-DE
2018 09

thermo
scientific