

DRI® Methadone Metabolite Assay

IVD Para uso en diagnóstico in vitro

Rx Only

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

Indicaciones

El ensayo DRI® Methadone Metabolite Assay está indicado para la determinación cualitativa y semicuantitativa de la presencia de metabolitos de metadona, (2-etilidin-1, 5-dimetil-3, 3-difenilpirrolidina o EDDP) en orina humana con un umbral de 1.000 ng/ml. El intervalo semicuantitativo del ensayo va de 31 a 2.000 ng/ml. El ensayo proporciona un procedimiento analítico sencillo y rápido para detectar los metabolitos de metadona en la orina humana.

Este ensayo solamente proporciona un resultado analítico preliminar. Para confirmar el resultado analítico debe usarse un método químico alternativo más específico. El uso de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) es el método de confirmación preferido.¹² Se deben tener en cuenta las consideraciones clínicas y el criterio profesional en la interpretación de los resultados de las pruebas de detección de drogas obtenidos, especialmente tratándose de resultados positivos preliminares.

Resumen y explicación de la prueba

La metadona es un opiáceo sintético que elimina con eficacia el deseo compulsivo de consumir heroína sin los efectos de euforia que produce esta droga. La metadona se utiliza habitualmente en los centros de desintoxicación para adictos a la heroína. El cumplimiento terapéutico del tratamiento con metadona es fundamental y se puede controlar eficazmente mediante la detección en orina de la metadona y su metabolito.

El mecanismo de metabolismo de la metadona se conoce bien. Una vez administrada, el hígado metaboliza rápidamente la metadona y la convierte en normetadona mediante N-desmetilación. La normetadona se detecta en muy pocas ocasiones ya que se deshidrata rápidamente para formar EDDP^{3,4} el principal metabolito de la metadona. La desmetilación posterior de EDDP forma 2-etil-5-metil-3, 3-difenil-1-pirrolina (EMDP), el metabolito secundario de la metadona que está presente en concentraciones más bajas.⁵

Actualmente se dispone de varias técnicas de inmunoanálisis para controlar el cumplimiento terapéutico del tratamiento con metadona.^{6,7} Sin embargo, estas pruebas solo miden el fármaco original (es decir, la metadona) y pueden dar "falsos positivos" en adictos que añaden una parte de su dosis de metadona directamente a la muestra de orina. Por lo tanto, a menudo se necesita la confirmación de la presencia de EDDP mediante cromatografía en capa fina (TLC) o cromatografía de gases (GC). Estos dos métodos, TLC y GC,⁷ son laboriosos y están sujetos a considerables interferencias. La determinación de la presencia de EDDP en orina mediante un inmunoanálisis permite una comprobación generalizada del cumplimiento normativo y descarta la posibilidad de añadir metadona a la orina en las clínicas en que se permite la recogida de las muestras de orina sin supervisión.⁸

El ensayo DRI Methadone Metabolite emplea reactivos y calibradores líquidos listos para su uso.⁹ En el ensayo se utilizan anticuerpos que pueden detectar EDDP en orina humana sin reactividad cruzada con el fármaco original, la metadona. El ensayo se basa en la competición entre un fármaco marcado con glucosa-6-fosfato dehidrogenasa (G6PDH) y un fármaco libre de la muestra por una cantidad fija de lugares de fijación de anticuerpos específicos. Si la muestra de orina no contiene fármaco libre, el anticuerpo específico se fija al fármaco etiquetado con G6PDH y produce una reducción en la actividad enzimática. Este fenómeno crea una relación directa entre la concentración del fármaco en la orina y la actividad enzimática. Esta actividad se determina espectrofotométricamente a 340 nm midiendo su capacidad para convertir la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en NADH.

Reactivos

Reactivo anticuerpo/sustrato (R1):

Contiene anticuerpo anti-EDDP monoclonal de ratón, glucosa-6-fosfato (G6P) y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en tampón Tris con azida sódica como conservante.

Reactivo de conjugado enzimático (R2):

Contiene derivado de EDDP etiquetado con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) en tampón Tris con azida sódica como conservante.

Materiales adicionales necesarios (se venden por separado):

REF	Descripción del kit
1664	Calibrador DRI negativo, 10 ml
1388	Calibrador DRI negativo, 25 ml
100117	Calibrador DRI de metabolito de metadona 150 ng/ml, 10 ml
100118	Calibrador DRI de metabolito de metadona 300 ng/ml, 10 ml
100120	Calibrador DRI de metabolito de metadona 1.000 ng/ml, 10 ml
100122	Calibrador DRI de metabolito de metadona 2.000 ng/ml, 10 ml
100200	Conjunto de controles para drogas en orina MGC Primary

Precauciones y advertencias

Los reactivos utilizados en los componentes del ensayo contienen $\leq 0,09\%$ de azida sódica. Evítese el contacto con la piel y las membranas mucosas. Consulte la Hoja de datos de seguridad para ver precauciones adicionales, instrucciones de manipulación y el tratamiento en caso de exposición accidental.

PELIGRO: Los reactivos contienen $\leq 0,2\%$ de albúmina de suero bovino (BSA) y $\leq 0,5\%$ de anticuerpo específico de una sustancia (ratón). Evítese el contacto con la piel y las membranas mucosas. Evítese la inhalación. Puede provocar una reacción alérgica por contacto con la piel o inhalación. Consulte la Hoja de datos de seguridad para ver precauciones adicionales, instrucciones de manipulación y el tratamiento en caso de exposición accidental.

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

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

Evitar respirar los vapores o la neblina. 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 reactivos

Los reactivos están listos para su uso; no se requiere ninguna preparación adicional. Los reactivos deben conservarse refrigerados. Todos los componentes del ensayo, abiertos o sin abrir, son estables hasta la fecha de caducidad que se indica en sus etiquetas respectivas. No utilizar los reactivos más allá de su fecha de caducidad.

En caso de vertido accidental, limpie y deseche el material según los procedimientos normales de trabajo del laboratorio, y las normativas locales y nacionales.

Si observa daños en el embalaje en el momento de la entrega, póngase en contacto con su representante de asistencia técnica (consulte la última página de este prospecto).

Recogida y manipulación de las muestras

Recoja las muestras de orina en recipientes de plástico o de vidrio.

Las muestras mantenidas a temperatura ambiente que no se analicen en los 7 días¹⁰ posteriores a su llegada al laboratorio deben conservarse en una unidad de refrigeración segura a entre 2 y 8 °C durante dos meses.¹¹ 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.^{11,12}

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.¹³

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 de ensayo

Para llevar a cabo este inmunoensayo se pueden usar analizadores capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir índices enzimáticos a 340 nm y cronometrar la reacción con precisión.

Consulte las instrucciones de la aplicación específica de cada analizador para obtener los parámetros químicos antes de efectuar el análisis.

Control de calidad y calibración¹⁴

Análisis cualitativo

Para el análisis cualitativo de las muestras, utilice el calibrador 1.000 ng/ml como nivel de umbral. El calibrador del valor umbral se utiliza como una referencia para distinguir las muestras "positivas" de las "negativas".

Análisis semicuantitativo

Para el análisis semicuantitativo, utilice todos los calibradores.

Según las prácticas recomendadas de laboratorio, es recomendable usar muestras de control para garantizar el funcionamiento correcto del ensayo. Utilice controles con valores cercanos al calibrador del valor umbral a fin de validar la calibración. Asegúrese de que los resultados de los controles están dentro de los intervalos establecidos, según los procedimientos y las pautas del laboratorio. Si los resultados quedan fuera de los intervalos establecidos, los resultados del ensayo no son válidos. Todos los requisitos de control de calidad se ajustarán a las normas o a los requisitos de acreditación locales, regionales y/o nacionales. Actualmente, la SAMHSA (Administración de salud mental y abuso de sustancias de EE. UU.) no establece recomendaciones sobre la concentración del calibrador de nivel de umbral. El estado de California recomienda una concentración de valor umbral de 1.000 ng/ml.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

Las muestras con una variación en los valores de absorbancia (ΔA) mayor o igual que el índice obtenido con el calibrador de valor umbral se consideran positivas. Las muestras con una variación del valor de absorbancia (ΔA) menor que el índice obtenido con el calibrador de valor umbral se consideran negativas.

Resultados semicuantitativos

Para obtener una estimación aproximada de la concentración de fármaco en las muestras puede trazarse una curva estándar empleando los calibradores adecuados y cuantificar las muestras a partir de la curva estándar. Si la concentración de la muestra es mayor que la del calibrador más alto, la muestra debe diluirse con orina negativa y analizarse de nuevo.

Limitaciones

1. Un resultado positivo de este ensayo indica únicamente la presencia de EDDP y no se relaciona necesariamente con el alcance de los efectos fisiológicos y psicológicos.
2. Otras sustancias y/o factores (por ejemplo, técnicos o de procedimiento) distintos de los analizados en el estudio de especificidad podrían interferir en la prueba y provocar resultados incorrectos.

Características típicas de rendimiento

Los resultados de rendimiento obtenidos en el analizador Hitachi 717 se muestran a continuación.¹⁵ Los resultados obtenidos en su laboratorio pueden diferir de estos datos.

Precisión

Los controles y calibradores de valor umbral (750 y 1.250 ng/ml) se analizaron en modo cualitativo (mA/min) y semicuantitativo (ng/ml) utilizando un protocolo NCCLS modificado. Para comprobar los controles y el calibrador de valor umbral se analizaron 6 muestras idénticas y cada prueba se realizó dos veces al día durante 10 días.

Análisis cualitativo:

Calibrador/Control (n=20)	Intraensayo			Ensayo total		
	\bar{x} (mA/min)	SD	% CV	\bar{x} (mA/min)	SD	% CV
Control negativo (750 ng/ml)	426	2,7	0,6	426	3,1	0,7
Calibrador de valor umbral (1.000 ng/ml)	456	3,1	0,7	456	3,2	0,7
Control positivo (1.250 ng/ml)	480	2,7	0,6	480	3,1	0,6

Análisis semicuantitativo:

Calibrador/Control (n=20)	Intraensayo			Ensayo total		
	\bar{x} (mA/min)	SD	% CV	\bar{x} (mA/min)	SD	% CV
Control negativo (750 ng/ml)	763	19,7	2,6	763	22,1	2,9
Calibrador de valor umbral (1.000 ng/ml)	1.016	23,6	2,3	1.016	25,7	2,5
Control positivo (1.250 ng/ml)	1.270	34,7	2,7	1.270	36,8	2,9

Sensibilidad

La sensibilidad, definida como la concentración más baja que puede diferenciarse del calibrador de orina negativo con una seguridad del 95 %, es de 31 ng/ml.

Precisión

Se analizaron 150 muestras clínicas obtenidas de pacientes sometidos a tratamiento con metadona con el ensayo DRI Methadone Metabolite Assay y GC/MS. La comparación de los resultados de los dos métodos produjo una ecuación de regresión lineal de $y = 0,87x - 2,3$ y se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de 0,994. La concordancia (es decir, el acuerdo clínico entre ambos métodos a la hora de identificar las muestras como positivas o negativas) superó el 95 % entre el dispositivo sometido a análisis y el método GC/MS. Los datos se presentan a continuación:

Análisis cualitativo

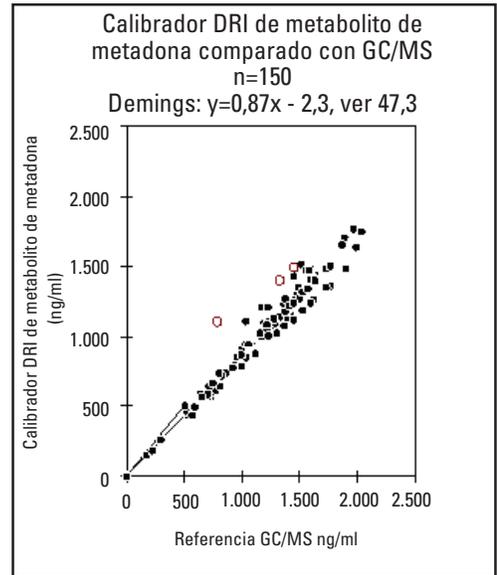
		DRI Methadone Metabolite Assay	
		+	-
GC/MS	+	69	5**
	-	0	76

Análisis semicuantitativo

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

** Los resultados de GC/MS indican que estas muestra contienen entre 1.014 y 1.208 ng/ml de EDDP (es decir, las concentraciones están aproximadamente en el nivel de umbral designado).

† Los resultados de GC/MS indican que la muestra contiene 790 ng/ml de EDDP.



Especificidad

La especificidad del ensayo se evaluó analizando el fármaco original y sus metabolitos. También se analizaron otros compuestos que normalmente están presentes en las muestras de orina.

La metadona y sus metabolitos produjeron un resultado negativo a las concentraciones relacionadas a continuación.

Compuesto	Concentración (ng/ml)
Metadona	35.000.000
EMDP	200.000
LAAM-HCL	100.000
Nor-LAAM-HCL	100.000

Varios compuestos analizados a las concentraciones indicadas a continuación produjeron un resultado negativo con un calibrador de valor umbral de 1.000 ng/ml:

Compuesto	ng/ml	Compuesto	ng/ml
Acetaminófono	1.000.000	Ibuprofeno	500.000
Ácido acetyl salicílico	1.000.000	Ketamina	1.000.000
Anfetamina	1.000.000	Levotiroxina	500.000
Benzoilecgonina	1.000.000	Meperidina	1.000.000
Cafeína	100.000	d-Metanfetamina	100.000
Captopril	500.000	l-Metanfetamina	100.000
Clordiazepóxido	100.000	Morfina	1.000.000
Cimetidina	500.000	Oxazepam	500.000
Cocaína	200.000	Fenciclidina	500.000
Codeína	1.000.000	Fenobarbital	1.000.000
Dextrometorfano	300.000	Fentermina	1.000.000
Diazepam	100.000	Prometazina	100.000
Difenhidramina	500.000	Propoxifeno	1.000.000
Disopiramida	1.000.000	Ranitidina	500.000
Doxilamina	500.000	Ácido salicílico	500.000
Efedrina	1.000.000	Secobarbital	1.000.000
Fluoxetina	500.000	11-Nor- Δ^9 -THC-9-COOH	10.000

interferencia

Se estudiaron las interferencias provocadas por sustancias endógenas y exógenas en el ensayo Methadone Metabolite. No se observaron interferencias en muestras de orina que contenían los compuestos hasta las concentraciones máximas indicadas a continuación. También se estudió el pH de la muestra de orina para posibles interferencias.

Compuesto	Concentración	Compuesto	Concentración
Acetaminófono	100 µg/ml	Glucosa	3.000 mg/dl
Acetona	1.000 mg/dl	Hemoglobina	150 mg/dl
Ácido ascórbico	1.000 mg/dl	Albúmina de suero humano	500 mg/dl
Aspirina	100 µg/ml	Ibuprofeno	100 µg/ml
Cafeína	100 µg/ml	Ácido oxálico	100 mg/ml
Creatinina	500 mg/dl	Intervalo de pH	3-11
Etanol	1 g/dl	Riboflavina	7,5 mg/dl
Galactosa	10 mg/dl	Cloruro sódico	1 g/dl
γ-globulina	500 mg/dl	Urea	1,25 g/dl

Referencias

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-PLICI-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.

Glosario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Servicio al cliente y
asistencia técnica en EE. UU.:
1-800-232-3342



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



Para obtener actualizaciones de prospectos, visite:
www.thermofisher.com/diagnostics

Otros países:

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

10006869-9-ES
2018 09

thermo
scientific