

DRI® Methadone Metabolite Assay

IVD Diagnostics in vitro

Rx Only

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

Utilisation prévue

Le dosage DRI® du métabolite de la méthadone permet la détermination qualitative et semi-quantitative de la présence du métabolite de la méthadone (2-éthylidène-1, 5-diméthyle-3, 3-diphénylpyrrolidine ou EDDP) dans l'urine d'origine humaine à une valeur de seuil de 1 000 ng/ml. L'analyse semi-quantitative du dosage porte sur la plage de 31 ng/ml à 2 000 ng/ml. Le dosage fournit une procédure de dépistage analytique à la fois simple et rapide qui détecte le métabolite de la méthadone dans l'urine d'origine humaine.

Ce dosage fournit uniquement un résultat de test analytique préliminaire. Une autre méthode chimique plus spécifique doit être utilisée afin d'obtenir un résultat analytique confirmé. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) constitue la méthode de confirmation de choix.¹² Il convient d'user de considération clinique et de jugement professionnel pour tout résultat de test de dépistage, tout particulièrement lorsque des résultats positifs préliminaires sont employés.

Résumé et explication du test

La méthadone est un opiacé de synthèse qui neutralise efficacement l'état de manque lié à l'héroïne sans en ressentir les effets euphoriques. La méthadone est couramment utilisée dans les centres de soin pour désintoxiquer et sevrer les héroïnomanes. L'observance du traitement à la méthadone est essentielle et peut être contrôlée efficacement par le dépistage de la méthadone et de son métabolite dans l'urine.

Le mécanisme du métabolisme de la méthadone est généralement bien compris. Une fois administrée, la méthadone est rapidement métabolisée dans le foie en norméthadone par N-déméthylation. La norméthadone est rarement détectée car elle se déshydrate facilement pour former l'EDDP,^{3,4} le métabolite primaire de la méthadone. La déméthylation plus poussée de l'EDDP transforme la structure en 2-éthyle-5-méthyle-3, 3-diphénylpyrrolidine (EMDP), le métabolite secondaire de la méthadone présent dans des concentrations plus faibles.⁵

Plusieurs techniques de dosage immunologique existent actuellement pour contrôler l'observance de la méthadone.^{6,7} Néanmoins, ces tests détectent uniquement la substance médicamenteuse mère (à savoir, la méthadone) et sont sujets aux « faux positifs » chez certains toxicomanes qui ajoutent une partie de leur méthadone directement dans l'échantillon d'urine. Par conséquent, la confirmation de la présence d'EDDP par chromatographie sur couche mince (CCM) ou par chromatographie en phase gazeuse (CG) est souvent nécessaire. Ces deux méthodes⁷ sont laborieuses et sujettes à des interférences importantes. La détermination de la présence d'EDDP dans l'urine au moyen d'un dosage immunologique rend possible la généralisation des tests d'observance et exclut la possibilité d'ajouter de la méthadone directement dans l'échantillon d'urine dans les centres où les prélèvements d'urine sont effectués sans surveillance.⁸

Le dosage DRI du métabolite de la méthadone utilise des réactifs et des étalons liquides prêts à l'emploi.⁹ Il utilise également des anticorps particuliers capables de détecter l'EDDP dans l'urine d'origine humaine sans engendrer de réactions croisées avec la substance médicamenteuse mère, la méthadone. Le dosage repose sur une compétition entre un médicament marqué avec du glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) et un médicament libre issu de l'échantillon d'urine, pour une quantité fixe de sites de liaison d'anticorps spécifiques. En l'absence de médicament libre dans l'échantillon, l'anticorps spécifique se lie au médicament marqué au G6PDH et provoque une réduction de l'activité enzymatique. Ce phénomène crée une relation directe entre la concentration de la substance dans l'urine et l'activité enzymatique. L'activité enzymatique est déterminée par spectrophotométrie à 340 nm en mesurant sa capacité à convertir le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en NADH.

Réactifs

Réactif de substitution/anticorps (R1) :

Contient un anticorps monoclonal anti-EDDP de souris, du glucose-6-phosphate (G6P) et du nicotinamide adénine dinucléotide (NAD) en tampon Tris avec de l'azoture de sodium comme conservateur.

Réactif conjugué enzymatique (R2) :

Contient un dérivé d'EDDP marqué avec du glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) en tampon Tris avec de l'azoture de sodium comme conservateur.

Produits supplémentaires nécessaires (vendus séparément) :

REF	Description du kit
1664	Étalon négatif DRI (10 ml)
1388	Étalon négatif DRI (25 ml)
100117	Étalon du métabolite de la méthadone 150 ng/ml DRI (10 ml)
100118	Étalon du métabolite de la méthadone 300 ng/ml DRI (10 ml)
100120	Étalon du métabolite de la méthadone 1 000 ng/ml DRI (10 ml)
100122	Étalon du métabolite de la méthadone 2 000 ng/ml DRI (10 ml)
100200	Système de contrôles MGC Primary DAU

⚠ Mises en garde et précautions d'emploi

Les réactifs utilisés dans les composants du dosage contiennent ≤ 0,09 % d'azoture de sodium. Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. Consulter la fiche de données de sécurité pour les précautions supplémentaires, les instructions de manipulation et le traitement à appliquer en cas d'exposition accidentelle.

DANGER : les réactifs contiennent ≤ 0,2 % d'albumine bovine (AB) et ≤ 0,5 % d'anticorps spécifiques au médicament (souris). Éviter toute inhalation. Peuvent provoquer une allergie cutanée ou une réaction allergique en cas d'inhalation. Consulter la fiche de données de sécurité pour les précautions supplémentaires, les instructions de manipulation et le traitement à appliquer en cas d'exposition accidentelle.

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

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

Éviter de respirer les gaz ou vapeurs. 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 stockage des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi. Aucune préparation supplémentaire n'est nécessaire. Ces réactifs doivent être conservés au réfrigérateur. Tous les composants du dosage, ouverts ou non, sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur leur étiquette. Aucun réactif ne doit être utilisé au-delà de sa date de péremption.

En cas de déversement accidentel, nettoyer et éliminer le matériel conformément à la procédure opérationnelle permanente de votre laboratoire et aux réglementations locales et nationales.

Si le colis est endommagé lors de la réception, contacter le représentant de votre service d'assistance technique (voir la dernière page de cette notice).

Prélèvement et manipulation des échantillons

Recueillir les échantillons d'urine dans des récipients en verre ou en plastique.

Les échantillons conservés à température ambiante et qui ne font pas l'objet d'un test initial dans les 7 jours¹⁰ suivant leur arrivée au laboratoire peuvent être placés dans une unité de réfrigération sécurisée entre 2 et 8 °C pendant deux mois.¹¹ Pour un stockage avant analyse plus long ou pour une conservation après analyse, les échantillons d'urine doivent être conservés à -20 °C.^{11,12}

Les laboratoires suivant les directives obligatoires de la SAMHSA doivent consulter ses exigences en matière de conservation réfrigérée à court et long termes.¹³

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

Pour effectuer ce dosage immunologique, il est possible d'utiliser des analyseurs de chimie clinique capables de maintenir une température constante, de pipeter des échantillons, de mélanger des réactifs, de mesurer des vitesses de réaction enzymatique à 340 nm et de chronométrer la réaction avec précision.

Se reporter aux instructions d'applications spécifiques de chaque analyseur pour connaître les paramètres chimiques avant d'effectuer le dosage.

Contrôle de la qualité et étalonnage¹⁴

Analyse qualitative

Utiliser un étalon de 1 000 ng/ml en guise de valeur de seuil pour effectuer une analyse qualitative des échantillons. L'étalon sert de référence de seuil pour distinguer les échantillons « positifs » et « négatifs ».

Analyse semi-quantitative

Utiliser n'importe quel étalon pour effectuer une analyse semi-quantitative.

Il est recommandé aux laboratoires d'utiliser des échantillons de contrôle pour garantir les performances correctes du dosage. Utiliser des contrôles proches de l'étalon seuil pour valider l'étalonnage. S'assurer que les résultats des contrôles concordent avec les plages établies comme indiqué par les directives et procédures de laboratoire. Les résultats non compris dans les plages spécifiées ne sont pas valides. Toutes les exigences de contrôle qualité doivent être appliquées conformément aux règlements locaux, régionaux et nationaux, ou aux conditions d'agrément. SAMHSA n'a actuellement fait aucune recommandation concernant la concentration de l'étalon seuil. L'État de Californie a recommandé une concentration de seuil de 1 000 ng/ml.

Résultats et valeurs attendues

Résultats qualitatifs

Un échantillon qui présente un changement de valeurs d'absorbance (ΔA) supérieur ou égal au taux obtenu avec l'étalon seuil est considéré comme positif. Un échantillon qui présente un changement de valeur d'absorbance (ΔA) inférieur au taux obtenu avec l'étalon seuil est considéré comme négatif.

Résultats semi-quantitatifs

Une estimation approximative de la concentration de substances médicamenteuses dans les échantillons peut être obtenue en établissant une courbe standard et en quantifiant les échantillons au-delà de cette même courbe. Les échantillons dont les résultats sont supérieurs à la concentration d'étalon maximale doivent être dilués avec de l'urine négative et testés de nouveau.

Limites

- Un résultat positif à ce dosage indique uniquement la présence d'EDDP et n'est pas nécessairement corrélé à l'ampleur des effets physiologiques et psychologiques.
- Il est possible que d'autres substances et/ou facteurs (techniques ou opératoires) autres que ceux analysés dans l'étude de spécificité, interfèrent avec le test et faussent les résultats.

Caractéristiques de performances spécifiques

Les résultats de performances obtenus sur l'analyseur Hitachi 717 sont affichés ci-dessous.¹⁵ Les résultats obtenus dans votre laboratoire peuvent différer de ces données.

Précision

L'étalon seuil et les contrôles (750 ng/ml et 1 250 ng/ml) ont été testés en modes qualitatif (mA/min) et semi-quantitatif (ng/ml) à l'aide du protocole NCCLS modifié. L'étalon seuil et les contrôles ont été testés en réplicats de 6, chaque test étant effectué deux fois par jour pendant 10 jours.

Qualitatif :

Étalon/contrôle (n=20)	En cours d'analyse			Analyse totale		
	\bar{x} (mA/min)	É-T	VC %	\bar{x} (mA/min)	É-T	VC %
Contrôle négatif (750 ng/ml)	426	2,7	0,6	426	3,1	0,7
Étalon seuil (1 000 ng/ml)	456	3,1	0,7	456	3,2	0,7
Contrôle positif (1 250 ng/ml)	480	2,7	0,6	480	3,1	0,6

Semi-quantitatif :

Étalon/contrôle (n=20)	En cours d'analyse			Analyse totale		
	\bar{x} (mA/min)	É-T	VC %	\bar{x} (mA/min)	É-T	VC %
Contrôle négatif (750 ng/ml)	763	19,7	2,6	763	22,1	2,9
Étalon seuil (1 000 ng/ml)	1 016	23,6	2,3	1 016	25,7	2,5
Contrôle positif (1 250 ng/ml)	1 270	34,7	2,7	1 270	36,8	2,9

Sensibilité

La sensibilité, définie comme étant la plus faible concentration pouvant se différencier de l'étalon urinaire négatif avec 95 % de confiance, est de 31 ng/ml.

Précision

Au total, 150 échantillons cliniques de patients recevant un traitement à la méthadone ont été testés avec un dosage DRI du métabolite de méthadone et une chromatographie GC/MS. La comparaison des résultats des deux méthodes a permis d'obtenir une équation de régression linéaire correspondant à $y = 0,87x - 2,3$ et un coefficient de corrélation (r) de 0,094. La concordance (notamment l'adéquation clinique entre les deux méthodes identifiant un échantillon comme positif ou négatif) était supérieure à 95 % entre le dispositif à évaluer et la chromatographie GC/MS. Les données sont présentées ci-dessous :

Qualitatif

Méthadone DRI
Dosage du métabolite

		+	-
GC/MS	+	69	5**
	-	0	76

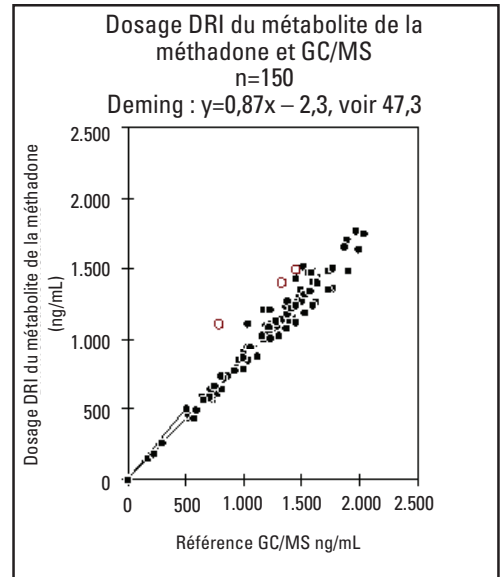
Semi-quantitatif

Méthadone DRI
Dosage du métabolite

		+	-
GC/MS	+	69	7**
	-	1†	73

** Les résultats de la chromatographie GC/MS indiquent que ces échantillons contiennent entre 1 014 ng/ml et 1 208 ng/ml d'EDDP (à savoir que les concentrations sont sensiblement au même niveau que la valeur de seuil définie).

† Le résultat de la chromatographie GC/MS indique que l'échantillon contient 790 ng/ml d'EDDP.



Spécificité

La spécificité du dosage a été évaluée en testant la substance médicamenteuse mère et ses métabolites. D'autres composés que l'on décèle généralement dans les échantillons d'urine ont également été testés.

La méthadone et ses métabolites produisent un résultat négatif aux concentrations répertoriées ci-dessous.

Composé	Concentration (ng/dl)
Méthadone	35 000 000
EMDP	200 000
LAAM-HCL	100 000
Nor-LAAM-HCL	100 000

Quand ils sont testés aux concentrations répertoriées ci-dessous et en utilisant un étalon seuil de 1 000 ng/ml, les différents composés produisent un résultat négatif :

Composé	ng/ml	Composé	ng/ml
Acétaminophène	1 000 000	Ibuprofène	500 000
Acide acétylsalicylique	1 000 000	Kétamine	1 000 000
Amphétamine	1 000 000	Lévothyroxine	500 000
Benzoylécgonine	1 000 000	Mépéridine	1 000 000
Caféine	100 000	d-méthamphétamine	100 000
Captopril	500 000	l-méthamphétamine	100 000
Chlordiazépoxyde	100 000	Morphine	1 000 000
Cimétidine	500 000	Oxazépam	500 000
Cocaïne	200 000	Phencyclidine	500 000
Codéine	1 000 000	Phénobarbital	1 000 000
Dextrométhorphan	300 000	Phentermine	1 000 000
Diazépam	100 000	Prométhazine	100 000
Diphenhydramine	500 000	Propoxyphène	1 000 000
Disopyramide	1 000 000	Ranitidine	500 000
Doxylamine	500 000	Acide salicylique	500 000
Éphédrine	1 000 000	Sécobarbital	1 000 000
Fluoxétine	500 000	11-Nor- Δ^9 -THC-9-COOH	10 000

Interférence

Des substances endogènes et exogènes ont été étudiées pour leurs interférences potentielles avec le dosage du métabolite de la méthadone. Aucune interférence n'a été observée dans les échantillons d'urine contenant des composants aux concentrations répertoriées ci-dessous. Le pH des échantillons d'urine a également été étudié pour d'éventuelles interférences.

Composé	Concentration	Composé	Concentration
Acétaminophène	100 µg/ml	Glucose	3 000 mg/dl
Acétone	1 000 mg/dl	Hémoglobine	150 mg/dl
Acide ascorbique	1 000 mg/dl	Albumine de sérum humain	500 mg/dl
Aspirine	100 µg/ml	Ibuprofène	100 µg/ml
Caféine	100 µg/ml	Acide oxalique	100 mg/ml
Créatinine	500 mg/dl	Plage de pH	3-11
Éthanol	1 g/dl	Riboflavine	7,5 mg/dl
Galactose	10 mg/dl	Chlorure de sodium	1 g/dl
γ-globuline	500 mg/dl	Urée	1,25 g/dl

Bibliographie

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, Llaatyshev, 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.

Glossaire :

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Service clientèle et assistance
technique américains :
1-800-232-3342



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



Pour obtenir des mises à jour concernant cette notice, consulter le site Web :
www.thermofisher.com/diagnostics

Autres pays :

Contactez votre représentant Thermo Fisher Scientific local.

10006869-9-FR
2018 09

thermo
scientific