

DRI® Methadone Metabolite Assay

IVD Per uso diagnostico in vitro

Rx Only

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

Uso previsto

Il dosaggio di metaboliti del metadone DRI® è concepito per la determinazione qualitativa e semiquantitativa della presenza di metaboliti del metadone, (2-etilidene-1, 5-dimetil-3, 3-difenilpirrolidina o EDDP), nell'urina umana al cutoff di 1.000 ng/mL. L'intervallo semiquantitativo del dosaggio è compreso tra 31 e 2.000 ng/mL. Il dosaggio fornisce una procedura di screening analitica semplice e rapida per rilevare metaboliti del metadone nell'urina umana.

Questo dosaggio fornisce solo un risultato del test analitico preliminare. È necessario utilizzare un metodo chimico alternativo più specifico per ottenere un risultato analitico confermato. Il metodo di conferma preferito è la gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).^{1,2} La considerazione clinica e la valutazione professionale sono fondamentali per qualsiasi risultato di test su droghe d'abuso, in particolare quando si utilizzano risultati positivi preliminari.

Riepilogo e spiegazione dei test

Il metadone è un oppiaceo sintetico che sopprime efficientemente il desiderio di eroina senza i relativi effetti euforici. Il metadone è comunemente usato nelle strutture di trattamento per disintossicare e sostenere i pazienti con dipendenza dall'eroina. La conformità al trattamento con metadone è essenziale e può essere monitorata efficientemente tramite lo screening dell'urina per individuare la presenza di metadone e dei suoi metaboliti.

Il meccanismo del metabolismo del metadone è largamente conosciuto. Dopo la somministrazione, il metadone viene rapidamente metabolizzato dal fegato in normetadone tramite N-demetilazione. Il normetadone viene raramente rilevato, perché si deidrata rapidamente per formare EDDP^{3,4} il metabolita primario del metadone. L'ulteriore demetilazione dell'EDDP forma il 2-etil-5-metil-3, 3-difenil-1-pirrolina (EMDP), il metabolita secondario del metadone, che è presente in concentrazioni inferiori.⁵

Per il monitoraggio della conformità al metadone sono attualmente disponibili varie tecniche di immunodosaggi.^{6,7} Tuttavia, questi test misurano solo il composto progenitore (ossia, il metadone) e sono soggetti a "falsi positivi" dai soggetti dipendenti che aggiungono una porzione del loro metadone direttamente nel campione di urina. Di conseguenza, la conferma della presenza dell'EDDP tramite cromatografia su strato sottile (TLC) o gascromatografia (GC) viene spesso richiesta. I metodi TLC e GC⁷ sono entrambi laboriosi e soggetti a considerevole interferenza. La determinazione della presenza di EDDP nell'urina con un immunodosaggio rende possibile l'impiego del test per la conformità ampiamente diffuso ed esclude la possibilità dell'aggiunta di metadone all'urina nelle cliniche dove sono consentite le raccolte di urina non supervisionate.⁸

Il dosaggio di metaboliti del metadone DRI utilizza reagenti e calibratori liquidi pronti per l'uso.⁹ Il dosaggio utilizza anticorpi specifici che possono rilevare l'EDDP nell'urina umana senza reattività crociata al composto progenitore, il metadone. Il dosaggio si basa sulla competizione per una quantità fissa di siti di legame degli anticorpi specifici tra il composto marcato con glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) e il composto libero nel campione di urina. Se dal campione è assente il composto libero, l'anticorpo specifico si lega al composto marcato con G6PDH e causa una riduzione dell'attività enzimatica. Il fenomeno crea una relazione diretta tra la concentrazione del composto nell'urina e l'attività enzimatica. L'attività enzimatica viene determinata tramite spettrofotometria a 340 nm misurando l'abilità di conversione del nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) in NADH.

Reagenti

Reagente anticorpo/substrato (R1):

Contiene anticorpo monoclonale murino anti-EDDP, glucosio-6-fosfato (G6P) e nicotinamide adenina dinucleotide (NAD) in tampone tris con sodio azide come conservante.

Reagente enzima-coniugato (R2):

Contiene derivato dell'EDDP marcato con glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) in tampone tris con sodio azide come conservante.

Materiali aggiuntivi richiesti (venduti separatamente):

REF	Descrizione del kit
1664	Calibratore negativo DRI, 10 mL
1388	Calibratore negativo DRI, 25 mL
100117	Calibratore di metaboliti del metadone DRI 150 ng/mL, 10 mL
100118	Calibratore di metaboliti del metadone DRI 300 ng/mL, 10 mL
100120	Calibratore di metaboliti del metadone DRI 1.000 ng/mL, 10 mL
100122	Calibratore di metaboliti del metadone DRI 2.000 ng/mL, 10 mL
100200	Set di controllo DAU primario MGC

⚠️ Precauzioni e avvertenze

I reagenti utilizzati nei componenti del dosaggio contengono fino allo 0,09% di sodio azide. Evitare il contatto con la pelle e con le membrane mucose. Per ulteriori precauzioni, istruzioni relative alla manipolazione e informazioni sul trattamento in caso di esposizione accidentale, fare riferimento alla scheda di sicurezza.

PERICOLO: i reagenti contengono ≤ 0,2% di siero bovino, ≤ 0,3% di sodio azide e ≤ 0,5% di anticorpo specifico del farmaco (topo). Evitare il contatto con la pelle e le membrane mucose. Non inalare. Può causare una reazione allergica cutanea o respiratoria. Per ulteriori precauzioni, istruzioni relative alla manipolazione e informazioni sul trattamento in caso di esposizione accidentale, fare riferimento alla scheda di sicurezza.

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

Evitare di respirare la polvere o i vapori. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

Preparazione e conservazione dei reagenti

I reagenti sono pronti per l'uso e non è necessaria un'ulteriore preparazione. I reagenti devono essere conservati in frigorifero. Tutti i componenti del dosaggio, indipendentemente dal fatto che siano aperti o meno, sono stabili fino alla data di scadenza indicata sulle rispettive etichette. Non utilizzare i reagenti dopo le rispettive date di scadenza.

In caso di fuoriuscite accidentali, pulire e smaltire il materiale in conformità alle SOP del laboratorio e alle normative vigenti.

Se la confezione arriva danneggiata, contattare il rappresentante locale dell'assistenza tecnica (fare riferimento al retro di questo foglietto illustrativo).

Prelievo e gestione dei campioni

Prelevare i campioni di urina in contenitori di plastica o vetro.

I campioni mantenuti a temperatura ambiente che non vengono inizialmente analizzati entro 7 giorni¹⁰ dall'arrivo in laboratorio devono essere riposti in un'unità di refrigerazione sicura a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C fino a un massimo di due mesi.¹¹ La conservazione dei campioni di urina per periodi più lunghi prima o dopo l'analisi deve essere effettuata a una temperatura di -20 °C.^{11,12}

I laboratori che seguono le linee guida obbligatorie SAMHSA devono fare riferimento ai requisiti SAMHSA "Short-Term Refrigerated Storage" (Conservazione refrigerata a breve termine) e "Long-Term Storage" (Conservazione a lungo termine).¹³

Per proteggere l'integrità del campione, non indurre la formazione di schiuma ed evitare congelamenti e scongelamenti ripetuti. Cercare di ottenere campioni pipettati senza detriti di grandi dimensioni. Si raccomanda di centrifugare i campioni notevolmente torbidi prima dell'analisi. I campioni congelati devono essere scongelati e miscelati prima dell'analisi. L'adulterazione del campione di urina può portare a risultati errati. Se si sospetta un'adulterazione del campione, prelevarne un altro e inoltrare entrambi i campioni al laboratorio per l'analisi.

Maneggiare tutti i campioni di urina come materiale potenzialmente infettivo.

Procedura di dosaggio

Per eseguire questo immunodosaggio è possibile utilizzare analizzatori di chimica clinica in grado di mantenere una temperatura costante, pipettare i campioni, miscelare i reagenti e misurare la velocità di reazione enzimatica a 340 nm e il tempo di reazione in modo accurato.

Prima di eseguire il dosaggio, consultare le istruzioni applicative specifiche per ogni analizzatore per i parametri chimici.

Controllo di qualità e calibrazione¹⁴

Analisi qualitativa

Per l'analisi qualitativa dei campioni, utilizzare 1.000 ng/mL di calibratore quale livello di cutoff. Il calibratore cutoff viene utilizzato come riferimento per distinguere i campioni "positivi" dai "negativi".

Analisi semiquantitativa

Per l'analisi semiquantitativa, utilizzare tutti i calibratori.

La buona pratica di laboratorio suggerisce l'uso di campioni di controllo per assicurare le corrette prestazioni del dosaggio. Per convalidare la calibrazione, utilizzare controlli prossimi al calibratore cutoff. Verificare che i risultati dei controlli siano compresi negli intervalli stabiliti, determinati dalle procedure e dalle linee guida del laboratorio. Se i valori non rientrano negli intervalli stabiliti, i risultati del dosaggio non sono validi. Tutti i requisiti di controllo della qualità devono essere soddisfatti in conformità alle normative vigenti o ai requisiti per l'accreditamento. Attualmente, SAMHSA non ha espresso raccomandazioni in relazione alla concentrazione del calibratore cutoff. Lo stato della California consiglia una concentrazione cutoff di 1.000 ng/mL.

Risultati e valori attesi

Risultati qualitativi

Un campione che presenta una variazione dei valori di assorbanza (ΔA) uguale o superiore alla percentuale ottenuta con il calibratore cutoff è considerato positivo. Un campione che presenta una variazione del valore di assorbanza (ΔA) inferiore alla percentuale ottenuta con il calibratore cutoff è considerato negativo.

Risultati semiquantitativi

Una stima approssimata della concentrazione di composto nei campioni può essere ottenuta eseguendo una curva standard con gli appropriati calibratori e tramite la quantificazione dei campioni fuori dalla curva standard. I valori dei campioni oltre la concentrazione più elevata di calibratori utilizzata devono essere diluiti con urina negativa e testati nuovamente.

Limitazioni

1. Un risultato positivo di questo dosaggio indica solo la presenza dell'EDDP, senza essere necessariamente correlato all'entità degli effetti fisiologici e psicologici.
2. È possibile che altre sostanze e/o altri fattori (ad esempio, tecnici o procedurali) diversi da quelli presi in esame nello studio di specificità possano interferire con il test e generare risultati falsi.

Caratteristiche tipiche di prestazione

Di seguito sono illustrati i risultati di prestazione ottenuti con l'analizzatore Hitachi 717.¹⁵ I risultati ottenuti nel proprio laboratorio potrebbero differire da questi valori.

Precisione

Il calibratore cutoff e i controlli (750 and 1.250 ng/mL) sono stati testati in modalità qualitativa (mA/min) e semiquantitativa (ng/mL) utilizzando un protocollo NCCLS modificato. Il calibratore cutoff e i controlli sono stati testati in repliche di 6 e ciascun test è stato eseguito due volte al giorno per 10 giorni.

Modalità qualitativa:

Calibratore/Controllo (n = 20)	Intra-analisi			Ciclo totale		
	\bar{x} (mA/min)	DS	CV (%)	\bar{x} (mA/min)	DS	CV (%)
Controllo negativo (750 ng/mL)	426	2,7	0,6	426	3,1	0,7
Calibratore cutoff (1.000 ng/mL)	456	3,1	0,7	456	3,2	0,7
Controllo positivo (1.250 ng/mL)	480	2,7	0,6	480	3,1	0,6

Modalità semiquantitativa:

Calibratore/Controllo (n = 20)	Intra-analisi			Ciclo totale		
	\bar{x} (mA/min)	DS	CV (%)	\bar{x} (mA/min)	DS	CV (%)
Controllo negativo (750 ng/mL)	763	19,7	2,6	763	22,1	2,9
Calibratore cutoff (1.000 ng/mL)	1.016	23,6	2,3	1.016	25,7	2,5
Controllo positivo (1.250 ng/mL)	1.270	34,7	2,7	1.270	36,8	2,9

Sensibilità

La sensibilità, definita come la minima concentrazione che può essere distinta dal calibratore di urina negativo con una confidenza al 95%, è pari a 31 ng/mL.

Accuratezza

È stato testato un totale di 150 campioni clinici ottenuti da pazienti sottoposti a trattamenti con metadone utilizzando il dosaggio di metaboliti del metadone DRI e i metodi GC/MS. Il confronto dei risultati tra i due metodi ha prodotto un'equazione di regressione lineare di $y = 0,87x - 2,3$ con un coefficiente di correlazione (r) pari a 0,994. La concordanza (ossia la corrispondenza clinica tra entrambi i metodi di identificazione di un campione come positivo o negativo) è risultata maggiore del 95% tra il dispositivo in esame e i metodi GC/MS. I dati sono riportati di seguito:

Modalità qualitativa

Dosaggio metaboliti metadone
DRI

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

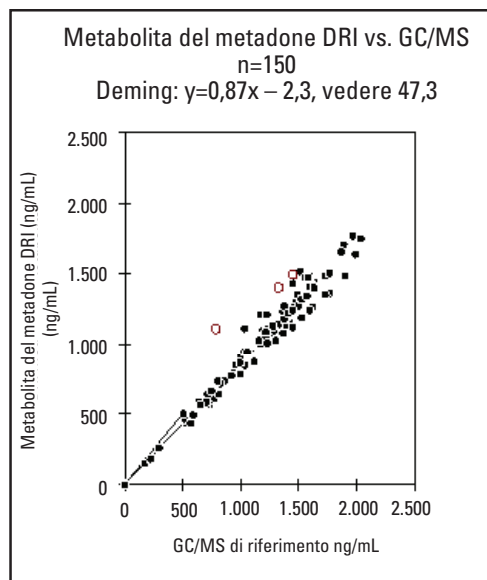
Modalità semiquantitativa

Dosaggio metaboliti metadone
DRI

		+	-
GC/MS	+	69	7**
	-	1†	73

** I risultati dei metodi GC/MS indicano che questi campioni contengono 1.014 - 1.208 ng/mL di EDDP (cioè, le concentrazioni sono approssimativamente al valore di cutoff designato).

† I risultati dei metodi GC/MS indicano che il campione contiene 790 ng/mL di EDDP.



Specificità

La specificità del dosaggio è stata valutata dal test sul composto progenitore e sui relativi metaboliti. Inoltre, sono stati testati composti comunemente presenti in campioni di urina.

Il metadone e i relativi metaboliti hanno prodotto un risultato negativo alle concentrazioni elencate di seguito.

Composto	Concentrazione (ng/mL)
Metadone	35.000.000
EMDP	200.000
LAAM-HCL	100.000
Nor-LAAM-HCL	100.000

Vari composti testati alle concentrazioni elencate di seguito hanno prodotto un risultato negativo con 1000 ng/mL di calibratore cutoff:

Composto	(ng/mL)	Composto	(ng/mL)
Acetaminofene	1.000.000	Ibuprofene	500.000
Acido acetilsalicilico	1.000.000	Chetamina	1.000.000
Amfetamina	1.000.000	Levotiroxina	500.000
Benzoilecgonina	1.000.000	Meperidina	1.000.000
Caffeina	100.000	d-Metamfetamina	100.000
Captopril	500.000	l-Metamfetamina	100.000
Clordiazepossido	100.000	Morfina	1.000.000
Cimetidina	500.000	Oxazepam	500.000
Cocaina	200.000	Fenciclidina	500.000
Codeina	1.000.000	Fenobarbital	1.000.000
Destrometorfano	300.000	Fentermina	1.000.000
Diazepam	100.000	Prometazina	100.000
Difenidramina	500.000	Propossifene	1.000.000
Disopiramide	1.000.000	Ranitidina	500.000
Dossilamina	500.000	Acido salicilurico	500.000
Efedrina	1.000.000	Secobarbital	1.000.000
Fluoxetina	500.000	11-Nor- Δ^9 -THC-9-COOH	10.000

Interferenza

Sostanze endogene ed esogene sono state studiate per potenziali interferenze con il dosaggio di metaboliti del metadone. Non si sono osservate interferenze con campioni di urina contenenti i composti fino alle concentrazioni elencate di seguito. Inoltre, è stato studiato il pH dei campioni di urina per potenziale interferenza.

Composto	Concentrazione	Composto	Concentrazione
Acetaminofene	100 µg/mL	Glucosio	3.000 mg/dL
Acetone	1.000 mg/dL	Emoglobina	150 mg/dL
Acido ascorbico	1.000 mg/dL	Albumina sierica umana	500 mg/dL
Aspirina	100 µg/mL	Ibuprofene	100 µg/mL
Caffeina	100 µg/mL	Acido ossalico	100 mg/mL
Creatinina	500 mg/dL	Intervallo del pH	3 - 11
Etanolo	1 g/dL	Riboflavina	7,5 mg/dL
Galattosio	10 mg/dL	Cloruro di sodio	1 g/dL
γ-globulina	500 mg/dL	Urea	1,25 g/dL

Bibliografia

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-PICI-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, Llaatsyev, S, Almazan P. Stability of painrelated 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.

Glossario:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Assistenza clienti e
tecnica USA:
1-800-232-3342



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



Per aggiornamenti del foglietto illustrativo, andare all'indirizzo:
www.thermofisher.com/diagnostics

Altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific locale.

10006869-9-IT
2018 09

thermo
scientific