

DRI[®] Methadone Metabolite Assay

Thermo
SCIENTIFIC

IVD For In Vitro Diagnostic Use

Rx Only

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

Intended Use

The DRI[®] Methadone Metabolite Assay is intended for the qualitative and semiquantitative determination of the presence of Methadone Metabolite, (2-ethylidene-1, 5-dimethyl-3, 3-diphenylpyrrolidine or EDDP), in human urine at cutoff 1000 ng/mL. The semiquantitative range of the assay is 31-2000 ng/mL. The assay provides a simple and rapid analytical screening procedure to detect methadone metabolite in human urine.

This assay provides only a preliminary analytical test result. A more specific alternative chemical method must be used in order to obtain a confirmed analytical result. Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) is the preferred confirmatory method.^{1,2} Clinical consideration and professional judgment should be applied to any drug of abuse test result, particularly when preliminary positive results are used.

Summary and Explanation of the Test

Methadone is a synthetic opiate that effectively suppresses the craving for heroin without the euphoric effects of heroin. Methadone is commonly used in treatment facilities to detoxify and maintain heroin addicts. Methadone treatment compliance is essential and can be effectively monitored by urine screening of methadone and its metabolite.

The mechanism of methadone metabolism is commonly understood. Once administered, methadone is quickly metabolized by the liver into normethadone by N-demethylation. Normethadone is rarely detected, because it readily dehydrates to form EDDP,^{3,4} the primary metabolite of methadone. Further demethylation of EDDP forms 2-ethyl-5-methyl-3, 3-diphenyl-1-pyrrolone (EMDP), the secondary metabolite of methadone, which is present in lower concentrations.⁵

Various immunoassay techniques are currently available for methadone compliance monitoring.^{6,7} However, these tests measure the parent drug only (i.e., methadone) and are subject to "false positives" from addicts who add a portion of their methadone directly into the urine sample. As a result, confirmation of the presence of EDDP by thin layer chromatography (TLC) or gas chromatography (GC) is often required. Both TLC and GC methods⁷ are laborious and subject to considerable interference. Determination of the presence of EDDP in urine with an immunoassay makes possible the widespread testing for compliance and rules out the possibility of adding Methadone to urine in clinics where unsupervised urine collections are permitted.⁸

The DRI Methadone Metabolite assay utilizes liquid ready-to-use reagents and calibrators.⁹ The assay uses specific antibodies that can detect EDDP in human urine without cross-reactivity to the parent drug, methadone. The assay is based on competition between a drug labeled with glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), and free drug from the urine sample for a fixed amount of specific antibody binding sites. In the absence of free drug from the sample, the specific antibody binds the drug labeled with G6PDH and causes a decrease in enzyme activity. This phenomenon creates a direct relationship between drug concentration in urine and enzyme activity. The enzyme activity is determined spectrophotometrically at 340 nm by measuring its ability to convert nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) to NADH.

Reagents

Antibody/Substrate Reagent (R1):

Contains mouse monoclonal anti-EDDP antibody, glucose-6-phosphate (G6P), and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) in Tris buffer with sodium azide as a preservative.

Enzyme Conjugate Reagent (R2):

Contains EDDP derivative labeled with glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) in Tris buffer with sodium azide as a preservative.

Additional Materials Required (sold separately):

REF	Kit Description
1664	DRI Negative Calibrator, 10 mL
1388	DRI Negative Calibrator, 25 mL
100117	DRI Methadone Metabolite 150 ng/mL Calibrator, 10 mL
100118	DRI Methadone Metabolite 300 ng/mL Calibrator, 10 mL
100120	DRI Methadone Metabolite 1000 ng/mL Calibrator, 10 mL
100122	DRI Methadone Metabolite 2000 ng/mL Calibrator, 10 mL
100200	MGC Primary DAU Control Set

⚠️ Precautions and Warnings

Reagents used in the assay components contain ≤0.09% sodium azide. Avoid contact with skin and mucous membranes. Refer to SDS for additional precautions, handling instructions, and accidental exposure treatment.

DANGER: The reagents contain ≤0.2% bovine serum albumin (BSA) and ≤0.5% Drug-specific antibody (Mouse). Avoid contact with skin and mucous membranes. Avoid inhalation. May cause skin or inhaled allergic reaction. Refer to SDS for additional precautions, handling instructions, and accidental exposure treatment.

H317 - May cause allergic skin reaction.

H334 - May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.

Avoid breathing mist or vapor. Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace. Wear protective gloves/eye protection/face protection. In case of inadequate ventilation wear respiratory protection. If on skin: Wash with plenty of soap and water. IF INHALED: If breathing is difficult, remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. If experiencing respiratory symptoms: Call a POISON CENTER or doctor/physician. Wash contaminated clothing before reuse. Dispose of contents/container to location in accordance with local/regional/national/international regulations.

Reagent Preparation and Storage

The reagents are ready-to-use; no additional preparation is required. Reagents should be stored refrigerated. All assay components, opened or unopened, are stable until the expiration date indicated on their respective labels. Do not use the reagents beyond their expiration dates.

In the case of accidental spill, clean and dispose of material according to your laboratory's SOP, local, and state regulations.

In the case of damaged packaging on arrival, contact your technical support representative (refer to back page of this PI).

Specimen Collection and Handling

Collect urine specimens in plastic or glass containers.

Specimens kept at room temperature that do not receive initial test within 7 days¹⁰ of arrival at the laboratory may be placed into a secure refrigeration unit at 2 to 8°C for two months.¹¹ For longer storage prior to analysis or for sample retention after analysis, urine specimens may be stored at -20°C.^{11, 12}

Laboratories following the SAMHSA mandatory guidelines should refer to SAMHSA "Short-Term Refrigerated Storage" and "Long-Term Storage" requirements.¹³

To protect the integrity of the sample, do not induce foaming and avoid repeated freezing and thawing. An effort should be made to keep pipetted samples free of gross debris. It is recommended that grossly turbid specimens be centrifuged before analysis. Frozen samples should be thawed and mixed prior to analysis. Adulteration of the urine sample may cause erroneous results. If adulteration is suspected, obtain another sample and forward both specimens to the laboratory for testing.

Handle all urine specimens as if they were potentially infectious.

Assay Procedure

Clinical chemistry analyzers capable of maintaining a constant temperature, pipetting samples, mixing reagents, measuring enzymatic rates at 340 nm and timing the reaction accurately can be used to perform this immunoassay.

Refer to the specific application instructions of each analyzer for chemistry parameters before performing the assay.

Quality Control and Calibration¹⁴

Qualitative Analysis

For qualitative analysis of samples, use 1000 ng/mL calibrator as a cutoff level. The cutoff calibrator is used as reference for distinguishing "positive" from "negative" samples.

Semiquantitative Analysis

For semiquantitative analysis, use all calibrators.

Good laboratory practice suggests the use of control specimens to ensure proper assay performance. Use controls near the cutoff calibrator to validate the calibration. Ensure that control results are within the established ranges as determined by laboratory procedures and guidelines. If results fall outside of the established ranges, assay results are invalid. All QC requirements should be performed in conformance with local, state and/or federal regulations or accreditation requirements. Currently, SAMHSA has made no recommendation regarding cutoff calibrator concentration. The State of California has recommended a cutoff concentration of 1000 ng/mL.

Results and Expected Values

Qualitative results

A sample that exhibits a change in absorbance value (ΔA) equal to or greater than the rate obtained with cutoff calibrator is considered positive. A sample that exhibits a change in absorbance value (ΔA) lower than the rate obtained with the cutoff calibrator is considered negative.

Semiquantitative results

A rough estimate of drug concentration in the samples can be obtained by running a standard curve with the appropriate calibrators and by quantitating samples off the standard curve. Sample results above the highest calibrator concentration in use should be diluted with negative urine and retested.

Limitations

1. A positive result from this assay indicates only the presence of EDDP and does not necessarily correlate with the extent of physiological and psychological effects.
2. It is possible that other substances and/or factors (technical or procedural), other than those investigated in the specificity study, may interfere with the test and cause false results.

Typical Performance Characteristics

Performance results obtained on the Hitachi 717 analyzer are shown below.¹⁵ The results obtained in your laboratory may differ from these data.

Precision

The cutoff calibrator and controls (750 and 1250 ng/mL) were tested in qualitative (mA/min) and semiquantitative (ng/mL) modes using a modified NCCLS protocol. The cutoff calibrator and controls were tested in replicates of 6 and each test was run twice per day for 10 days.

Qualitative:

Calibrator/Control (n=20)	Within-run			Total-run		
	\bar{x} (mA/min)	SD	%CV	\bar{x} (mA/min)	SD	%CV
Negative Control (750 ng/mL)	426	2.7	0.6	426	3.1	0.7
Cutoff Calibrator (1000 ng/mL)	456	3.1	0.7	456	3.2	0.7
Positive Control (1250 ng/mL)	480	2.7	0.6	480	3.1	0.6

Semiquantitative:

Calibrator/Control (n=20)	Within-run			Total-run		
	\bar{x} (mA/min)	SD	%CV	\bar{x} (mA/min)	SD	%CV
Negative Control (750 ng/mL)	763	19.7	2.6	763	22.1	2.9
Cutoff Calibrator (1000 ng/mL)	1016	23.6	2.3	1016	25.7	2.5
Positive Control (1250 ng/mL)	1270	34.7	2.7	1270	36.8	2.9

Sensitivity

Sensitivity, defined as the lowest concentration that can be differentiated from the negative urine calibrator with 95% confidence, is 31 ng/mL.

Accuracy

A total of 150 clinical specimens obtained from patients receiving methadone treatment were tested using the DRI Methadone Metabolite Assay and GC/MS. Comparison of results between the two methods produced a linear regression equation of $y = 0.87x - 2.3$ and a correlation coefficient (r) of 0.994 were obtained. Concordance (i.e., clinical agreement between both methods identifying a specimen as positive or negative) was greater than 95% between the subject device and the GC/MS. The data are presented below:

Qualitative

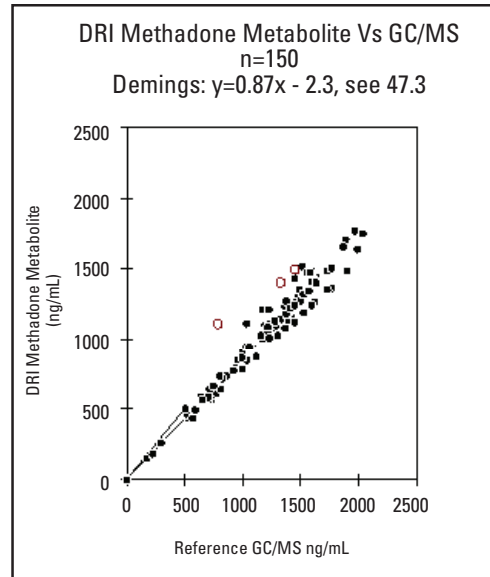
		DRI Methadone Metabolite Assay	
		+	-
GC/MS	+	69	5**
	-	0	76

Semi-quantitative

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

** GC/MS results indicate that these samples contain 1014-1208 ng/mL EDDP (i.e., the concentrations are approximately at the designated cutoff).

† GC/MS result indicates that the sample contains 790 ng/mL EDDP.



Specificity

The specificity of the assay was evaluated by testing parent drug and its metabolites. Other compounds that are commonly encountered in urine samples were also tested.

Methadone and its metabolites produced a negative result at the concentrations listed below.

Compound	Concentration (ng/mL)
Methadone	35,000,000
EMDP	200,000
LAAM-HCL	100,000
Nor-LAAM-HCL	100,000

Various compounds when tested at the concentrations listed below produced a negative result using 1000 ng/mL cutoff calibrator:

Compound	ng/mL	Compound	ng/mL
Acetaminophen	1,000,000	Ibuprofen	500,000
Acetylsalicylic acid	1,000,000	Ketamine	1,000,000
Amphetamine	1,000,000	Levothyroxine	500,000
Benzoylcegonine	1,000,000	Meperidine	1,000,000
Caffeine	100,000	d-Methamphetamine	100,000
Captopril	500,000	l-Methamphetamine	100,000
Chlordiazepoxide	100,000	Morphine	1,000,000
Cimetidine	500,000	Oxazepam	500,000
Cocaine	200,000	Phencyclidine	500,000
Codeine	1,000,000	Phenobarbital	1,000,000
Dextromethorphan	300,000	Phentermine	1,000,000
Diazepam	100,000	Promethazine	100,000
Diphenhydramine	500,000	Propoxyphene	1,000,000
Disopyramide	1,000,000	Ranitidine	500,000
Doxylamine	500,000	Salicylic acid	500,000
Ephedrine	1,000,000	Secobarbital	1,000,000
Fluoxetine	500,000	11-Nor- Δ^9 -THC-9-COOH	10,000

Interference

Endogenous and exogenous substances were studied for potential interference with the Methadone Metabolite assay. No interference was observed in urine samples containing the compounds up to the concentrations listed below. The pH of the urine sample was also studied for possible interference.

Compound	Concentration	Compound	Concentration
Acetaminophen	100 µg/mL	Glucose	3000 mg/dL
Acetone	1000 mg/dL	Hemoglobin	150 mg/dL
Ascorbic acid	1000 mg/dL	Human Serum Albumin	500 mg/dL
Aspirin	100 µg/mL	Ibuprofen	100 µg/mL
Caffeine	100 µg/mL	Oxalic acid	100 mg/dL
Creatinine	500 mg/dL	pH range	3-11
Ethanol	1 g/dL	Riboflavin	7.5 mg/dL
Galactose	10 mg/dL	Sodium Chloride	1 g/dL
γ-globulin	500 mg/dL	Urea	1.25 g/dL

References

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, 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.

Glossary:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
US Customer and
Technical Support:
1-800-232-3342



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



For insert updates go to:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Other countries:

Please contact your local Thermo Fisher Scientific representative.

10006869-8-EN
2017 08

Thermo
SCIENTIFIC

DRI® Methadone Metabolite Assay

Thermo
SCIENTIFIC

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

- Ein positives Testergebnis zeigt lediglich das Vorhandensein von EDDP an und muss nicht unbedingt mit dem Ausmaß der physiologischen und psychologischen Effekte korrelieren.
- 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

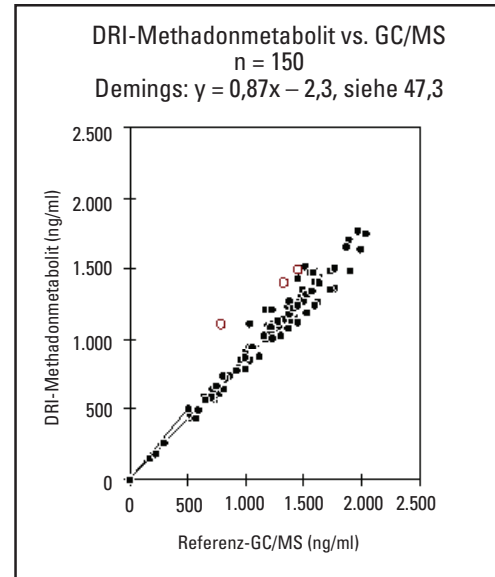
		DRI-Methadonmetabolit-Assay	
		+	-
GC/MS	+	69	5**
	-	0	76

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.thermoscientific.com/diagnostics

Andere Länder:

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

10006869-8-DE
2017 08

Thermo
SCIENTIFIC

DRI® Methadone Metabolite Assay

Thermo
SCIENTIFIC

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'azotate 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'azotate 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'azotate 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

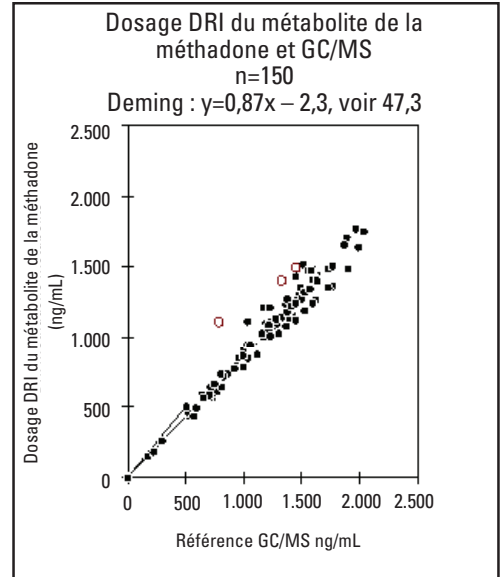
Semi-quantitatif

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
Chlordiazépoxide	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.thermoscientific.com/diagnostics

Autres pays :

Contactez votre représentant Thermo Fisher Scientific local.

10006869-8-FR
2017 08

Thermo
SCIENTIFIC

DRI® Methadone Metabolite Assay

Thermo
SCIENTIFIC

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 nicotinammide adenina dinucleotide (NAD) in NADH.

Reagenti

Reagente anticorpo/substrato (R1):

Contiene anticorpo monoclonale murino anti-EDDP, glucosio-6-fosfato (G6P) e nicotinammide 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 (1.016 ng/mL)	1.016	23,6	2,3	1.016	25,7	2,5
Controllo positivo (1.270 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

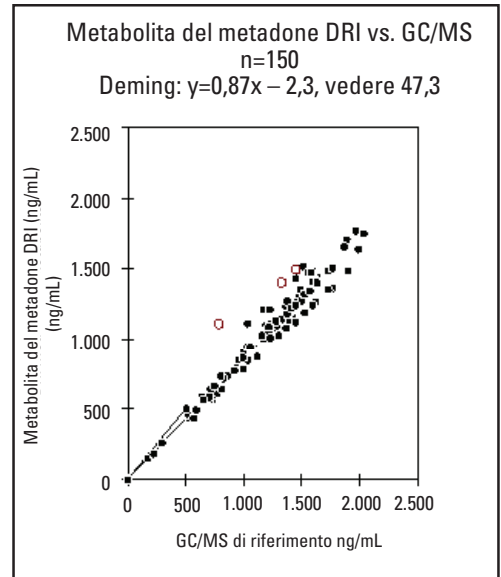
Modalità semiquantitativa

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-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, 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.thermoscientific.com/diagnostics

Altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific locale.

10006869-8-IT
2017 08

Thermo
SCIENTIFIC

DRI® Methadone Metabolite Assay

Thermo
SCIENTIFIC

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-etilidín-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 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. Evítase 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). Evítase el contacto con la piel y las membranas mucosas. Evítase 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:

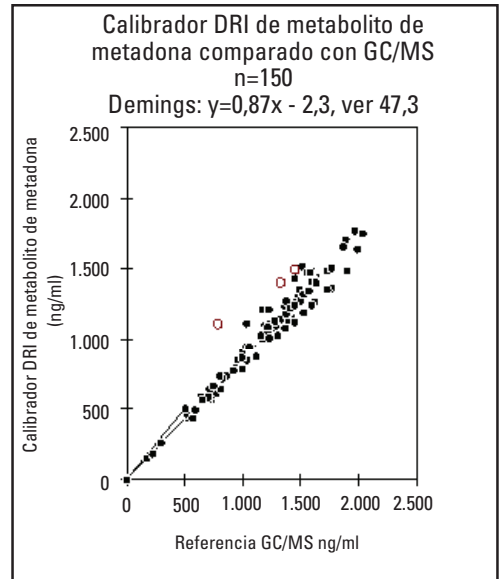
Análisis cualitativo

		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
Acetaminófeno	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-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, Llaatsyev, 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.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:

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

10006869-8-ES
2017 08

Thermo
SCIENTIFIC