

**AMBALARE**
**R1: 1 x 42 ml**
**R2: 1 x 16 ml**
**SCOPUL**

Testul imunologic enzimatic pentru metadona (EIA) este un sistem imunologic enzimatic omogen destinat utilizarii in analiza calitativa si semicantitativa a metadonei in lichidul oral.

Analiza ofera doar un rezultat analitic preliminar. Trebuie utilizata o metoda chimica alternativa mai specifica pentru a obtine o confirmare a rezultatelor analitice. Cromatografia de gaz / spectrometria de masa (GC / MS) este metoda de confirmare preferata. Consideratia clinica si rationamentul profesional trebuie sa fie exercitate asupra oricarui rezultat, pentru a stabili tratamentul sau terapia adecvata.

**PRINCIPIUL METODEI**

Imunotestul pentru metadona este o analiza imunologica omogena cu reactiv lichid gata de utilizare. Analiza se bazeaza pe concurenta dintre medicamentul din proba si medicamentul marcat cu enzima glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G6PDH) pentru o cantitate fixa de anticorp in reactiv. Activitatea enzimatica scade odata cu legarea la anticorp si concentratia medicamentului din proba este masurata in termeni de activitate enzimatica. In absenta medicamentului din proba, conjugatul G6PDH marcat cu metadona este legat de anticorp si activitatea enzimatica este inhibata. Pe de alta parte, atunci cand medicamentul liber este prezent in proba, anticorpul se va lega de medicamentul liber; G6PDH marcat cu metadona nelegata prezinta apoi activitatea maxima a enzimei.

Enzima activa converteste nicotinamid-adenin dinucleotida (NAD) la NADH, rezultand o schimbare de absorbtie care poate fi masurata spectrofotometric la 340 nm.

**SEMNFICATIA TESTULUI**

Metadona este un opioid puternic cu actiune indelungata, utilizat in mod obisnuit ca substituent pentru opioide, prevenind aparitia simptomelor de sevraj. Proprietatile sale analgezice sunt similare cu cele ale morfinei, dar acumularea medicamentului poate produce un efect sedativ.

Metadona are un timp de injumatatire plasmatica in sange intre 15 si 72 de ore, o parte din doza fiind metabolizata la EDDP si EMDP cu doze tipice cuprinse intre 10 si 120 mg. Au fost raportate concentratii de metadona de pana la 3,460 ng / ml.

**REACTIVI**

**Anticorp / reactivsubstrat (R<sub>1</sub>):** Contine anticorp monoclonal de soarece pentru metadona, glucoz-6-fosfat (G6P), nicotinamidadinina dinucleotida (NAD), stabilizatori si azida de sodiu ca conservant.

**Reactiv conjugat enzima-medicament (R<sub>2</sub>):** Contine glucoza-6-fosfat dehidrogenaza (G6PDH) marcata cu metadona in solutie tampon cu azida de sodiu ca conservant.

**Evitati expunerile prelungite ale reactivului la temperaturi mai mari de 25°C.**

**CALIBRATORI/CONTROALE**

**Lichid oral negativ pentru Metadona (Nivelul 0):** Contine tampon de lichid oral negativ cu azida de sodiu ca conservant.

**Metadona Control lichid oral (Nivelul 1):** Contine 5 ng / mL metadona in tampon lichid oral cu azida de sodiu ca conservant.

**Calibrator lichid oral Metadona (Nivelul 2):** Contine 10 ng / mL metadona in tampon lichid oral cu azida de sodiu ca conservant.

**Control lichid oral Metadona (Nivelul 3):** Contine 15 ng / mL metadona in tampon de lichid oral cu azida de sodiu ca conservant.

**Calibrator lichid oral Metadona (Nivelul 4):** Contine 50 ng / mL metadona in tampon de lichid oral cu azida de sodiu ca conservant.

**Calibrator / Control lichid oral Metadona**

**PREPARARE**

Reactivii sunt gata de utilizare. Nu este necesara pregatirea reactivului. Toate componentele testului trebuie pastrate la frigider atunci cand nu sunt folosite.

**AVERTISMENT SI PRECAUTII**

Acest test este destinat numai utilizarii diagnostice in vitro.

Daunator daca e inghitit.

Reactivii utilizati in analiza contin azid de sodiu care poate reactiona cu plumbul sau instalatiile de cupru pentru a forma azida metalica potential exploziva. Atunci cand eliminati astfel de reactivi sau deseuri intotdeauna spalati cu un volum mare de apa pentru a preveni acumularea de azide. Nu utilizati reactivii dupa datele de expirare.

Pastrati toate recipientele inchise cand nu le utilizati pentru a evita contaminarea microbiana.

Nu amestecati reactivi de la diferiti producatori.

Nu congelati reactivii.

Concentratia finala a componentelor este sub limitele impuse de Regulamentul (CE) nr. 1272/2008 - CLP (si amendamentele ulterioare) si Directiva 88/379 / CEE si modificarile ulterioare ale clasificarii si ambalarii si

etichetarea substantelor periculoase. Esantionul trebuie recoltat in conformitate cu instructiunile de utilizare. Saliva curata este diluata cu tampon de volum de proba de doua ori inainte de analiza. In consecinta, valorile de cut-off si determinarea semicantitativa ar trebui sa fie ajustate prin factorul de dilutie. Probele trebuie sa fie la temperatura camerei de 18-25°C pentru testare. Probele cu turbiditate ridicata trebuie centrifugate / filtrate inainte de analiza. Probele de lichid oral proaspete si depozitate adecvat trebuie sa se incadreze in intervalul de pH normal de 6-8; cu toate acestea, orice proba cu un pH cuprins intre 1-13 poate fi testata fara nici o pretratare a probelor. Manipulati toate probele de lichid oral ca in cazul in care acestea sunt potential infectioase

**INSTRUMENTAR NECESAR**

Analoaze de chimie clinica capabile sa mentina o temperatura constanta, sa pipeteze probe, omogenizare reactivi, vitezele de masurare a enzimelor la 340 nm si timpul precis de reactie pot fi utilizate pentru a efectua aceasta analiza imunologica omogena.

**PROCEDURA**

Analoaze cu specificatiile indicate mai sus sunt potrivite pentru realizarea acestui imunotest omogen enzimatic. Consultati parametrul specific folosit pentru fiecare analizor inainte de a efectua analiza.

Parametrii tipici de testare utilizati de analizoare utilizate 30 µL proba L, 130 µL de reactiv anticorp (R<sub>1</sub>) si 65 µL de reactiv conjugat enzimatic (R<sub>2</sub>) in 37°C temperatura de incubare, cadre de citire 4 min si 340nm lungime de unda primara.

Fisele de instructiuni pentru mai multi analizoare automate sunt disponibile la cerere.

**CALIBRARE**

Pentru determinarile calitative, reactivul trebuie calibrat cu calibratorul de separare selectat. Pentru determinarile semi-cantitative, reactivul poate fi calibrat cu o curba de calibrare de 3 puncte.

Cut-off (ng/ml)	CALITATIV		SEMI-CANTITATIV
	Nivel calibrator cut-off (ng/ml)	Nivelurile de control (ng/ml)	Nivelurile de calibrare (ng/ml)
10	Nivelul 2 (10)	Nivelul 1 (5) Nivelul 3 (15)	Nivel 0 (0) Nivelul 2 (10) Nivelul 4 (50)

Reactivul trebuie recalibrat in fiecare luna, cand controalele sunt in afara specificatiilor (a se vedea informatiile privind controlul calitatii) si cand se schimba lotul reactivului sau setarile instrumentului.

**INTERPRETARE**

Pentru determinarile calitative, calibratorul cut-off (10ng / mL) de metadona este utilizat ca referinta pentru a distinge esantioanele pozitive fata de cele negative. O proba cu o modificare a absorbtiei (Δ mA / min) egala sau mai mare decat cea obtinuta cu calibratorul cut-off este considerata pozitiva. O proba cu o valoare a absorbtiei mai mica decat cea obtinuta cu calibratorul cut-off este considerata negativa.

Pentru determinarile semi-cantitative, este necesara o curba de calibrare cu trei calibratori. Concentratia de metadona din proba poate fi apoi estimata din curba de calibrare.

**CONTROL DE CALITATE**

Bunele practici de laborator recomanda folosirea probelor de control pentru a asigura o performanta adecvata a analizelor. Pentru determinari calitative, utilizati controalele (nivelurile 1 si 3) pentru a valida calibrarea. Rezultatul nivelului de control 1 trebuie sa fie sub nivelul cut-off selectat, iar rezultatul controlului Nivelul 3 trebuie sa fie mai mare decat cel al calibratorului cut-off selectat. Pentru determinarile cantitative, curba de calibrare trebuie validata cu controale comerciale.

**LIMITARI**

Un rezultat pozitiv al testului indica numai prezenta metadonei. Pentru detalii privind metodele recomandate de testare a confirmarii, consultati instructiunile de utilizare aferente.

Testul este conceput pentru utilizarea numai cu lichid oral.

## PRECIZIE

**Intra-test** : Concentratiile unui nivel apropiat de cut-off si doua niveluri mai mari au fost determinate cu curbele de referinta de la 6 calibratori / controale pentru 20 de teste consecutive.

	Calitativ (mA / min)			Semi-cantitative (ng / ml)		
	Medie	SD	% CV	Medie	SD	% CV
Nivelul 1	277,2	0,63	0,23%	5,8	0,22	3,84%
Nivelul 2	298,2	0,41	0,14%	14,1	0,18	1,32%
Nivelul 3	343,1	0,47	0,14%	41,7	0,40	0,96%

**Inter-test**: Doua alte nivele (unul apropiat, cut-off si unul mai mare) au fost, de asemenea, determinate pentru 19 runde intr-o perioada de o luna.

	Calitativ (mA / min)			Semi-cantitative (ng / ml)		
	Medie	SD	% CV	Medie	SD	% CV
Nivelul 1	275	2,34	0,85%	7,0	0,56	7,93%
Nivelul 2	287,5	2,02	0,70%	17,0	0,86	5,08%

## PRECIZIE

Doua sute cincizeci (250) probe clinice de fluid oral au fost testate cu - imunotestul enzimatic pentru metadona pentru saliva si comparate cu ELISA. Rezultatele corelatiei sunt rezumate dupa cum urmeaza:

	ELISA	
	+	-
<b>EIA</b>	155	3
	3	89

au prezentat o Sensibilitate si o Specificitate de 98,1%, respectiv 96,7, cu un interval de incredere de 95%.

Patruzeci si patru (44) probe clinice de fluid oral au fost testate cu imunotestul enzimatic pentru metadona pentru saliva si au fost comparate cu metoda de confirmare LC-MS-MS. Rezultatele corelatiei sunt rezumate dupa cum urmeaza:

	LC-MS-MS	
	+	-
<b>DoA</b>	43	0
	1	0

## SPECIFICITATE

substante potential interferente au fost testate pentru reactivitate incrucisata cu analiza. Compusii de testat au fost adaugati in matricea urinei de calibrare fara medicamente la diferite concentratii si evaluate comparativ cu calibratorul cut off (10ng / ml).

Este posibil ca alte substante si / sau factori care nu sunt enumerati mai jos sa interfereze cu testul si sa produca rezultate pozitive false.





Urmatorii compusi nu reactioneaza incrucisat la 100.000 ng / ml:

Codeina	Cocaina
6-acetil morfina	Cocaetilena
Oxicodona	Ester metilic al ecgoninei
Heroina	Benzoilecgonina
Dihidrocodeina	Cotinina
Morfina	Amobarbital
MDA	11-Hydroxy- $\Delta^9$ -THC
MDMA	$\Delta^9$ -THC
(+) Pseudoefedrina	Canabidiol
Metamfetamina	Maleat de clorfeniramina
Amfetamina	Paracetamolul
Diazepam	Aspirina
Temazepam	

## BIBLIOGRAFIE

*Urine Testing for Drug of Abuse, National Institute on Drug Abuse (NIDA) Research Monograph 73, 1986. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program, National Institute on Drug Abuse, Federal Register, vol. 69, No. 71, pp19644 (2004).*  
*Drummer O., The Forensic Pharmacology of Drugs of Abuse, ISBN 0 340 76257 8, www.Arnoldpublishers.com, 2001*  
*Leavitt S., et al When "enough" is not enough: new perspectives on optimal methadone maintenance dose, The Mount Sinai Journal of Medicine, 76, 5 & 6, 2000.*  
*Bermejo A., Lucas A., & Tabernero, Saliva/Plasma Ratio of methadone and EDDP Journal of Analytical Toxicology, 24, Jan/Feb, 2000.*  
*Rubenstein, K.E., R.S. Schneider, and E.F. Ullman, Homogeneous Enzyme Immunoassay: A New Immunochemical Technique, Biochem Biophys Res Commun, 47, 846 (1972)*

## SIMBOLURI

<b>CE</b>	Marcajul CE (Regulamentul 98/79 CE)
<b>IVD</b>	Dispozitiv medical in vitro
<b>LOT</b>	Codul lotului
	Utilizati pana la
	Limitele temperaturii de depozitare
	Cititi instructiunile pentru utilizare
	Swiss Pharm Import - Export