

Evaluation de l'«Agglutex» comme test rapide de détection des opiacés dans l'urine

T. Vu Duc, A. Vernay

Institut universitaire de médecine du travail et d'hygiène industrielle

Route de la Clochette, CH 1052 Le Mont sur Lausanne

INTRODUCTION

Il est nécessaire de recourir aux analyses pour s'assurer objectivement du retrait d'un sujet de la drogue, ou pour détecter une éventuelle toxicomanie. Les procédés de dépistage rapide tels l'EMIT¹ ou la RIA² exigent un appareillage coûteux. Un test rapide pour la détection des opiacés dans l'urine, l'Agglutex³, basé sur le principe de l'inhibition de l'agglutination au latex, ne requérant qu'un minimum d'effort et pas d'équipement spécial a été lancé sur le marché suisse; le résultat est disponible après 2 heures.

BUT DU TRAVAIL

- Evaluer la sensibilité du test vis-à-vis de la morphine et de la codéine.
- Etudier la spécificité vis-à-vis des dérivés de la morphine ainsi que des analgésiques de synthèse.
- Examiner l'influence des médicaments usuels métabolisés et éliminés dans l'urine sur la spécificité du test.
- Effectuer une comparaison inter-méthode avec l'EMIT et la chromatographie.

La particularité du travail est que le choix des urines à tester avec l'Agglutex est fait en fonction des résultats préalables donnés par l'EMIT, puis par la chromatographie et, aussi, en fonction de la présence des médicaments absorbés à des doses thérapeutiques.

PRINCIPE

Les particules de latex sont utilisées comme support de la morphine. En présence d'antisérum anti-morphine, il se produit une réaction qui conduit à la cristallisation des particules de latex formant un agglutinat visible.

Lorsque la morphine se trouve dans l'urine, elle neutralise l'antisérum, inhibant la précipitation des particules de latex. Dans ce cas, la solution présente un aspect trouble et laiteux.

METHODES

Le laboratoire pratique systématiquement la confirmation par chromatographie de tous les échantillons positifs ou douteux à l'EMIT.

Les urines ont été prélevées pendant la période d'absorption du médicament et d'élimination dans les 24-36 heures. Le nombre de vrais positifs sans difficulté particulière a été volontairement limité.

A) AGGLUTEX: la trousse contient tous les éléments nécessaires au test. Dans un tube, on ajoute 0,5 ml d'urine, puis 0,1 ml de réactif au latex et 2 ml d'antisérum. On mélange par inversion 3 fois et on laisse incuber dans un thermoblock, préalablement chauffé à 37°C, pendant 2 heures au bout desquelles on observe le résultat.

B) EMIT: selon procédé indiqué par le fabricant. Un ΔE de signe + indique un résultat positif en opiacés.

A - 5 unités ΔE , l'échantillon est considéré comme douteux (\pm) et est soumis à la confirmation par chromatographie.

C) CHROMATOGRAPHIE: en couche mince ou en phase gazeuse

RESULTATS

A) Sensibilité* à la morphine et à la codéine

	Morphine [$\mu\text{g/ml}$ urine]		Codéine [$\mu\text{g/ml}$ urine]	
	Agglutex	EMIT (ΔE)	Agglutex	EMIT (ΔE)
0,2	-	- (-14)	0,2	- (-10)
	-	- (-20)	-	- (-6)
	-	- (-16)	-	- (-9)
0,3	-	\pm (-5)	0,3	+ (+10)
	-	\pm (-5)	+	+ (+10)
	-	\pm (-3)	+	+ (+10)
0,4	\pm	+ (+3)	0,4	+ (+20)
	\pm	+ (+5)	+	+ (+25)
	\pm	+ (+4)	+	+ (+25)
0,5	+	+ (+10)	0,5	+ (+32)
	+	+ (+11)	+	+ (+32)
	+	+ (+14)	+	+ (+32)

* Déterminée en triplicate. Les résultats avec l'EMIT sont donnés à titre comparatif.

B) Réactions croisées avec les dérivés de la morphine

	ng/ml	200	300	400	600
Dextrométhorphan		-	-	-	-
Dihydrocodéine		-	+	+	
Ethylmorphine		-	+		
Hydrocodone		-	+	+	
Hydromorphone		-	-	+	
Nalorphine		-	-	-	-
Naloxon		-	-	-	-
Oxycodone		-	-	-	

C) Spécificité vis-à-vis des analgésiques de synthèse

	NEGATIF	POSITIF
Méthadone	100 $\mu\text{g/ml}$	
Méthadone métabolite*	100 $\mu\text{g/ml}$	
Pentazocine	100 $\mu\text{g/ml}$	
Dextromoramide	100 $\mu\text{g/ml}$	
Cétobémidone	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$
Péthidine	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$

* 2-éthylidène-1,5-diméthyl-3,3-diphénylpyrrolidine.

¹ EMIT: Enzyme immunoassay technique, Syva Palo Alto, USA.

² RIA: Radioimmunoassay.

³ AGGLUTEX: Roche Diagnostica, CH-Bâle.

D) Spécificité vis-à-vis des principes actifs divers et des médicaments prescrits

La propyphénazone n'interfère pas jusqu'au seuil testé de 500 µg/ml.

Dans le groupe des phénothiazines, la chlorpromazine, la lévomépromazine, la prométhazine et la promazine donnent des résultats négatifs à 400 µg/ml.

Les urines provenant de sujets qui ont absorbé des médicaments prescrits aux doses thérapeutiques supérieures n'ont pas donné d'interférences positives, notamment celles contenant:

- Les tranquillisants et hypnotiques de type benzodiazépines
- Les stimulants à base d'amphétamine, d'éphédrine, de caféine
- Les analgésiques non narcotiques (dextropropoxyphène, tilidine, aminophénazone)
- Les antipyrétiques (paracétamol, phénacétine, quinine)
- Les sédatifs (barbituriques, méthaqualone)
- Les antimigraignes (acide acétylsalicylique, dihydroergotamine)
- Les anti-allergiques (diphénhydramine)

E) Comparaison interméthode

Nombre d'analyses: 82

%	Agglutex	EMIT	Chromatographie et remarques
18	+	+	Morphine et/ou codéine
5	+	+	Faux positifs. Substances non identifiées
55	-	-	Vrais négatifs. Médicaments indiqués ou identifiés ou substances inconnues
15	-	±	Méthadone et métabolites (forte dose) + substances non identifiées
7	-	+	Substances non identifiées

DISCUSSION

- L'Agglutex réagit aux dérivés structurellement semblables à la morphine et en particulier à la codéine. Les analgésiques de synthèse n'interfèrent pas sauf à des concentrations très élevées, voire irréalistes.
- Le seuil quantitatif de réponse à 300 ng de morphine n'est pas observé. Il est par contre net à 500 ng. Nos résultats sur les réactions croisées avec les dérivés de la morphine présentent des différences quantitatives par rapport à ceux de Baumler [1].
- Les tests avec les dérivés de la morphine sont faits par dopage de la forme libre. Il est prouvé, dans les situations réelles, que l'Agglutex détecte aussi la forme conjuguée, ce qui est un avantage car aucune préparation préalable de l'échantillon n'est nécessaire (hydrolyse, extraction, etc).
- L'intérêt de tester la spécificité de l'Agglutex sur des urines de personnes ayant absorbé des médicaments contenant les principes actifs en cause réside dans le fait que les résultats reflètent des situations réelles où interviennent la substance de

base et les produits de dégradation sous toutes les formes.

- Les médicaments usuels prescrits aux doses thérapeutiques ne donnent pas d'interférence aux concentrations éliminées dans l'urine pendant la phase d'absorption.
- Il apparaît qu'en pratique courante, l'Agglutex-opiacés est relativement plus spécifique que son homologue l'EMIT. Dans un contexte de confirmation systématique des positifs ou douteux par la chromatographie, l'Agglutex aurait donné 22 % de confirmation en moins à effectuer, ce qui est appréciable.

CONCLUSION

1. Le test "Agglutex" donne un résultat positif avec les opiacés et leurs dérivés et n'est pas spécifique de la morphine (métabolite de l'héroïne).
2. La réponse à 0,3-0,5 µg/ml d'échantillon permet la confirmation en cas de nécessité. Le test est rapide, demande peu de travail et d'équipement. Pour les laboratoires déjà équipés, travaillant sur des quantités supérieures à 1200 tests/an, l'avantage est moins évident, car le prix du test est plus élevé.
3. L'"Agglutex" est particulièrement adapté aux demandes d'analyses isolées mais, comme toute technique immunologique, nécessite une confirmation par une deuxième méthode de principe différent lorsque les résultats servent de base aux décisions importantes.

SUMMARY

Evaluation of a latex agglutination-inhibition test tube for urinary opiates.

Selected urine samples resulting from the determinations of opiates by EMIT and chromatography were submitted to the agglutination-inhibition test. The Agglutex appears to be relatively more specific than EMIT in the sense that used as a screening test for opiates, it would save about 22 % of systematic confirmation by chromatography. A great number of drugs absorbed at therapeutic levels and eliminated in the urine did not interfere.

ZUSAMENFASSUNG

Bewertung des Latex-Agglutinationstest Röhrchens für Opiate im Urin.

Ausgewählte Urinproben aus der Bestimmung von Opiaten durch EMIT und Chromatographie wurden dem Latex-Agglutinationshemmungstest unterworfen.

Der von Roche-Diagnostica erhältliche Test erscheint in dem Sinne spezifischer als EMIT, dass er eine ca. 22 %-ige Einsparung an systematischer Bestätigung durch Chromatographie erlaubt. Störungen durch eine grosse Anzahl von Arzneistoffen in therapeutischer Menge, welche im Urin abgeschieden werden, wurden nicht festgestellt.

Wie mit anderen Immuntesten dürfte jedoch zur gerichtlichen Festigkeit des Ergebnisses eine Bestätigung durch eine andere Methode unerlässlich sein.

LITTERATURE

- [1] Baumler J. : Latex-Agglutinationstest auf Opiate. Das Medizinische Laboratorium 35(5), 141-143 (1982)

ADRESSE DES AUTEURS

T. Vu Duc et A. Vernay : Institut universitaire de médecine du travail et d'hygiène industrielle, Route de la Clochette, CH 1052 Le Mont sur Lausanne.