

## Valutazione del test immunocromatografico rapido ToxSTATus™ per lo screening urinario di oppiacei, metadone, cocaina, cannabinoidi e amfetamine

Lucio Marchioro, Silvia Ponchia, Anna Tommasi, Mario Plebani

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Ospedaliera - Università di Padova

### ABSTRACT

#### Evaluation of ToxSTATus™ immunochromatographic test for the determination of Cocaine, Opiates, Cannabinoids, Amphetamines and Methadone in urine samples

We evaluated the ToxSTATus™ Multiple Drug Dipcard for the qualitative determination of several drugs of abuse in urine samples. We compared the immunochromatographic test with the results obtained by the KIMS technique (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution). ToxSTATus™ involves the use of specific antibodies for several drugs as Cocaine, Opiates, Cannabinoids, Amphetamines and Methadone. We analyzed n°45 samples and we verified sensitivity, specificity and efficiency (according to Insook) of all parameters. In the complex we obtained good results for samples and controls: each result must be then confirmed with screening assays.

### RIASSUNTO

Abbiamo valutato le prestazioni del test immunocromatografico rapido ToxSTATus™ Multiple Drug Dipcard, per la ricerca di varie sostanze d'abuso nelle urine, posto a confronto con la tecnologia KIMS (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution). ToxSTATus™ si basa su una metodica immunocromatografica su lastrina che implica l'utilizzo di anticorpi specifici per varie sostanze quali cocaina, oppiacei, cannabinoidi, amfetamine e metadone. Selezionando n°45 campioni di urina da pazienti tossicodipendenti sono state verificate, per ciascun parametro, la sensibilità, specificità ed efficienza (secondo Insook). I risultati ottenuti hanno messo in luce buone prestazioni di ToxSTATus™, sia con i campioni che con i materiali di controllo. Come tutte le metodiche on site, i risultati ottenuti devono comunque essere poi confermati con i test di screening.

### INTRODUZIONE

Per il dosaggio delle sostanze d'abuso c'è a disposizione un'ampia varietà di metodologie analitiche che va dai semplici test immunochimici (i test radioimmunologici sono stati abbandonati da diversi anni), molto utilizzati per lo screening urinario come test di 1° livello, fino ai test cromatografici, nelle loro forme più o meno sofisticate: Thin Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Gas Cromatografia con rilevazione di massa (GC/MS), High Performance Liquid Chromatography con rilevazione di massa (HPLC/MS), impiegati sia come test di screening che test di 2° livello (conferma).

Molto recentemente, contro queste più o meno sofisticate tecnologie, è intervenuta una sorta di sfida lanciata da sistemi semplici ed immediati per analizzare una sempre più ricca ed eterogenea gamma di parametri (1). Questi variano dai costituenti più semplici quali glucosio o colesterolo (2) alle ben più raffinate determinazioni di marcatori cardiaci come la troponina T (3), i test coagulativi (4) ed altri test d'interesse microbiologico, ematologico, oncologico fino alla possibilità di test decentrati per droghe d'abuso (5-11).

Quest'ultima possibilità è attualmente ben sfruttata da particolari servizi istituzionali sanitari (Servizi per le Tossi-

codipendenze, Pronto Soccorso) e non sanitari (Case di Reclusione).

La valutazione del test immunocromatografico rapido ToxSTATus™, per la ricerca di varie sostanze d'abuso nelle urine, è stata condotta in confronto con la tecnologia KIMS (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution) attualmente in uso presso il nostro laboratorio.

### MATERIALI E METODI

#### Descrizione del metodo

ToxSTATus™ Multiple Drug Dipcard è un test rapido in vitro per l'identificazione di sostanze d'abuso quali cocaina, oppiacei, cannabinoidi, amfetamine e metadone eventualmente presenti in campioni di urina. Il test fornisce una valutazione visiva di tipo qualitativo ed è finalizzata solamente ad un uso clinico diagnostico.

#### Principio del metodo

ToxSTATus™ (Fig.1) si basa su una metodica immunocromatografica su lastrina che implica l'utilizzo di anticorpi specifici per varie sostanze. Se una droga è presente nell'urina in quantità superiore al cut-off, questa agirà tramite un meccanismo di competizione con la droga coniugata. Lo spiazzamento comporta l'impossibilità della



**Figura 1**  
Lastrina multianalita.

**Tabella 1**  
Specificità dichiarata delle varie sostanze

Sostanza	ng/mL
<b>Cocaina</b>	
Benzoylcognone	300
Cocaine	300
Ecgonine	>100.000
Ecgonine Methyl Ester	>100.000
<b>Oppiacei</b>	
Codeine	300
Ethil Morphine	300
Hydromorphone	400
<b>Cannabinoidi</b>	
11-nor- $\Delta$ -8-Tetrahydrocannabinol-9-carboxylic acid	50
11-Hydroxy- $\Delta$ <sup>9</sup> - Tetrahydrocannabinol	2.500
$\Delta$ -9- Tetrahydrocannabinol	10.500
$\Delta$ -8-Tetrahydrocannabinol	7.000
Cannabinol	10.000
Cannabidiol	100.000
<b>Amfetamine</b>	
d-Amphetamine	1.000
l-Amphetamine	10.000
(+/-)3,4-Methylenedioxyamphetamine	5.000
<b>Metadone</b>	
Methadol	1.000
2-Ethylidene 1,5-dimethyl-3,3-diphenylpyrrolidine	50.000

droga coniugata, immobilizzata sulla membrana, di legarsi al complesso di oro-colloidale presente. L'assenza (o meglio, la non comparsa) di una linea colorata in rosa sulla zona test indica un risultato positivo per la droga testata. Se la droga non è presente in quantità sufficiente o è del tutto assente, il complesso colorato di oro-colloidale si legherà alla droga coniugata immobilizzata per dare una linea visibile nella specifica zona test della membrana, la quale contiene anticorpi monoclonali per la morfina, proteine di coniugazione per la benzoilecgonina,  $\Delta$ -9-tetraidrocannabinolo, d-amfetamina e metadone. Le regioni di controllo positivo e controllo negativo contengono anticorpi IgG di capra.

Il legame dell'anticorpo all'analita avviene molto rapidamente. Sono sufficienti 10 secondi di immersione del ToxSTATUS™ per avere una risposta rapida e visibile nei 5 minuti successivi. Il test non risulta valido qualora non appaiano righe in alcuna delle zone. Il risultato ottenuto è espresso in termini di Negatività o di Positività.

### Specificità

I dati dichiarati e relativi alla specificità (Tab.1) di ToxSTATUS™ sono stati ottenuti aggiungendo specifici componenti a urine normali. I valori sono espressi come concentrazione in ng/mL del composto che è stato osservato produrre un risultato positivo.

A garanzia della integrità delle lastrine, queste vanno conservate a temperatura ambiente nell'apposito involucro.

### Casistica clinica

In un periodo di circa 3 mesi sono stati selezionati un totale di 45 campioni di urina (38 maschi e 7 femmine) raccolti presso il Servizio delle Tossicodipendenze (Ser.T.) di Padova e pervenuti al nostro laboratorio con specifiche richieste di dosaggio di sostanze d'abuso. Non tutte le richieste prevedevano lo stesso profilo e, per quanto possibile, nella selezione sono stati privilegiati campioni positivi per poliabuso.

Sono stati in seguito raccolti 20 campioni di urina da volontari non tossicodipendenti come gruppo di controllo negativo.

### Verifica di qualità

Come verifica di qualità sono stati testati 3 materiali di controllo (uno Urine Toxicology Negative Control e due Urine Toxicology Control, BIO-RAD, Milano, Italia): Liquicheck™ N cod. 460, Liquicheck™ S1 low opiate cod. 466 e Liquicheck™ S2 low opiate cod. 467 (Lotto n° 65600, n° 70090, n° 70160 rispettivamente).

### Procedura del test

Come previsto dalle istruzioni i campioni di urina sono stati portati a temperatura ambiente prima dell'esecuzione della determinazione. La lastrina è stata estratta dalla confezione solo al momento dell'applicazione del campione, eseguita semplicemente raccogliendo l'urina in un bicchiere, rimuovendo la lastrina dall'involucro, staccando

la copertura della parte terminale e immergendo per 10 secondi ToxSTATus™ nell'urina: questa per capillarità raggiunge la zona di reazione. La lettura del risultato è stata eseguita dopo 5 minuti.

### Interpretazione dei risultati

**Negativo:** la comparsa di una linea colorata sia nella zona di controllo negativo (N) che nella zona test (T) indica che il risultato è negativo per quel particolare test. Il colore della linea della zona T può risultare più chiaro o più scuro di quello della zona N.

**Positivo:** appare una linea solo nella zona N. Non si osserva alcuna linea nella zona T.

**Non valido:** il test non risulta valido se non appare alcuna linea nella zona di controllo positivo (P) o nella zona N (Fig. 1).

### Metodologia Kims

La metodica per il dosaggio delle sostanze d'abuso KIMS (Kinetic Interaction of Microparticles in a Solution) si basa sull'interazione cinetica in soluzione tra gli anticorpi specifici anti-sostanza d'abuso e microparticelle coniugate con la droga, misurata come variazione dell'estinzione della soluzione in esame, rivelabile con misura spettrofotometrica a 505 nm.

Se la droga non è presente nel campione, l'anticorpo libero si lega alle microparticelle coniugate con la droga provocando la formazione di aggregati di particelle, con aumento dell'assorbanza. Se, invece, il campione di urina contiene una droga, tale sostanza competerà per l'anticorpo libero con il derivato della droga legato alle microparticelle. L'anticorpo legato alla droga non sarà più a disposizione per provocare l'aggregazione, pertanto la formazione del reticolo di microparticelle risulterà inibita. La presenza della droga nel campione di urina provoca così la diminuzione dell'assorbanza in proporzione alla concentrazione di droga presente. Tutte le determinazioni sono state eseguite sullo strumento Hitachi 912 Analyzer (Roche Diagnostics, Milano), in dotazione nel nostro laboratorio, con l'utilizzo di reagenti Abuscreen OnLine (Roche Diagnostics, Milano), di calibratori Preciset DAT I e Preciset DAT II (Roche Diagnostics, Milano) e di 3 materiali di controllo Liquicheck™ (Bio-Rad).

### Analisi statistica

La sensibilità del test ToxSTATus™ (sua capacità di fornire corretti risultati positivi nei soggetti oggetto dello studio), la specificità (sua capacità di fornire corretti risultati negativi) e l'efficienza sono stati calcolati come Insook (12):

$$\text{Sensibilità} = \frac{VP}{VP+FN} * 100$$

$$\text{Specificità} = \frac{VN}{VN + FN} * 100$$

$$\text{Efficienza} = \frac{TP + TN}{TP + NT + FP + FN} * 100$$

(VP= Veri Positivi; VN= Veri Negativi; FP= Falsi Positivi; FN= Falsi Negativi; TP= Totali Positivi; TN= Totali Negativi).

Nella sperimentazione effettuata sono qui considerati VP, VN, FP e FN quei risultati confrontati con il metodo immunoenzimatico di screening, metodo di livello subito superiore ad un test rapido.

### RISULTATI

Nelle Tab. 2 e 3 è riportato il riepilogo rispettivamente del gruppo di campioni selezionati tra quelli provenienti dal Ser.T. (n= 45) e del gruppo di controllo negativo (n= 20).

**Opiacei.** Per questa classe di sostanza sono stati ottenuti 65 risultati, di cui 19 positivi (29,2%) e nessun risultato discordante con il metodo immunoenzimatico (KIMS) considerato di riferimento (sensibilità: 100%, specificità: 100%, efficienza: 100%).

**Metadone.** Per questa classe di sostanza abbiamo ottenuto 64 risultati, di cui 18 positivi (28,1%) e nessun risultato discordante (sensibilità: 100%, specificità: 100%, efficienza: 100%).

**Cocaina.** Per questa classe di sostanza abbiamo ottenuto 61 risultati, di cui 16 positivi (26,2%) e nessun risultato discordante (sensibilità: 100%, specificità: 100%, efficienza: 100%).

**Cannabinoidi.** Per questi abbiamo ottenuto 47 risultati, di cui 13 positivi (27,7%) e nessun risultato discordante (sensibilità: 100%, specificità: 100%, efficienza: 100%).

**Amfetamine.** Questa classe di sostanze è stata dosata su 46 campioni con il riscontro di 1 risultato positivo (2,1%). Questo, assieme al risultato ottenuto per il campione n°24, rappresentano n°2 esiti discordanti con i risultati della metodica immunoenzimatica (sensibilità: 50%, specificità: 98%, efficienza: 95,8%).

In Tab.4 è riportato il riepilogo dei risultati ottenuti con i 3 materiali di controllo: un campione negativo (N), un campione con concentrazioni delle sostanze presenti inferiori del 25-30% ai rispettivi cut-off (S1) e un campione con concentrazioni superiori del 25-30% ai rispettivi cut-off (S2).

### DISCUSSIONE

Esistono diverse motivazioni per le quali i test rapidi per sostanze d'abuso possono essere richiesti: in ambito clinico come immediato riscontro di un sospetto d'abuso, in ambito del sistema giudiziario e carcerario, in situazioni di emergenza o nel caso che un laboratorio, che esegue test di screening, non risulti facilmente raggiungibile (13-16).

Assieme alla rapidità di risposta (TAT) ed alla eventuale conseguente azione clinica intrapresa ci sono altri vantaggi che supportano l'uso di test rapidi per droghe d'abuso, come la non necessità di allestimento di una catena di custodia (il test viene eseguito dove il campione viene raccolto) e la possibilità da parte del soggetto sottoposto a controllo di assistere all'esecuzione del test.

**Tabella 2**  
Risultati relativi ai campioni di urina provenienti dal Ser. T.

Campioni	Sostanza d'abuso	ToxStatus	Kims (µg/L)
1	Oppiacei	positivo	6190
	Metadone	positivo	amax
	Cocaina	positivo	321
	THC	positivo	151
2	Oppiacei	positivo	6145
	Metadone	positivo	476
	Cocaina	positivo	986
	THC	positivo	151
3	Oppiacei	positivo	6171
	Metadone	positivo	amax
	Cocaina	positivo	1024
	THC	positivo	147
4	Oppiacei	positivo	6287
	Metadone	positivo	1028
	Cocaina	positivo	1057
	THC	positivo	158
5	Oppiacei	positivo	4258
	Metadone	positivo	1928
	Cocaina	positivo	980
	THC	positivo	146
6	Oppiacei	positivo	5345
	Metadone	positivo	amax
	Cocaina	positivo	1010
7	Oppiacei	positivo	990
	Metadone	positivo	1060
	Cocaina	positivo	819
8	Oppiacei	positivo	4517
	Metadone	positivo	1078
	Cocaina	positivo	701
	THC	positivo	amax
9	Oppiacei	positivo	amax
	Metadone	positivo	1655
10	Oppiacei	positivo	5524
	Metadone	positivo	1016
	Cocaina	positivo	1037
11	Oppiacei	positivo	3883
	Metadone	positivo	780
	Cocaina	positivo	642
12	Oppiacei	positivo	6937
	Metadone	positivo	1075
	Cocaina	positivo	891
13	Oppiacei	positivo	1123
	Cocaina	positivo	612
	THC	positivo	159
	Amfetamine	positivo	414
14	Oppiacei	positivo	497
	Metadone	positivo	882
	Cocaina	positivo	615
15	Oppiacei	positivo	7090
	Metadone	positivo	1161
	Cocaina	positivo	1014
	Amfetamine	positivo	414
16	Oppiacei	positivo	2742
	Metadone	positivo	1248
	Cocaina	positivo	1036
17	Oppiacei	positivo	2715
	Metadone	positivo	1331
	Cocaina	positivo	1024

18	Oppiacei	positivo	480
	Metadone	positivo	1751
	THC	positivo	246
19	Oppiacei	positivo	416
	Metadone	positivo	2500
	THC	positivo	246
20	Amfetamine	positivo	789
	Oppiacei	negativo	<cut-off
	Metadone	negativo	<cut-off
	Cocaina	negativo	<cut-off
21	THC	positivo	158
	Amfetamine	negativo	751
	Oppiacei	negativo	<cut-off
22	Metadone	negativo	<cut-off
	Cocaina	negativo	<cut-off
	THC	positivo	157
23	Amfetamine	negativo	595
	Oppiacei	negativo	<cut-off
	Metadone	negativo	<cut-off
	Cocaina	negativo	<cut-off
24	THC	positivo	160
	Amfetamine	negativo	581
	Oppiacei	negativo	<cut-off
da 25 al 45	Metadone	negativo	<cut-off
	Cocaina	negativo	<cut-off
	THC	positivo	159
	Oppiacei	negativo	1983
da 25 al 45	Metadone	negativo	564
	Amfetamine	negativo	1077
	Oppiacei	negativo	<cut-off
da 25 al 45	Metadone	negativo	<cut-off
	Cocaina	negativo	<cut-off
	THC	positivo	159

Al di là dei costi, che per un test rapido sono solitamente superiori ai test di screening, alcuni svantaggi si contrappongono a quanto descritto sopra. La limitata specificità degli anticorpi impiegati, il limitato numero di test disponibili, la mancanza di una vera e propria adesione a programmi di Controllo di Qualità (sia interno che esterno), l'assenza di registrazione dei risultati ottenuti, l'interpretazione di linee di positività/negatività non sempre ben evidenti e l'impossibilità di eseguire un contemporaneo test di controllo della integrità del campione di urina pongono seri limiti all'uso esclusivo di questi test (17).

**Tabella 3**  
Risultati dei campioni relativi al gruppo di controllo negativo.

Campioni	Sostanza d'abuso	ToxStatus	Kims (µg/L)
dal 1 al 20	Oppiacei	negativo	<cut-off
	Metadone		
	Amfetamine		
	Cocaina		
dal 1 al 20	THC	negativo	<cut-off
	Amfetamine		

ToxSTATus™ si è dimostrato un buon test rapido raggiungendo buone prestazioni sia in termini di specificità, sensibilità ed efficienza.

Il basso numero di risultati discordanti (n°2) e il fatto che questi siano stati riscontrati solo per le Amfetamine evidenzia le reali difficoltà legate al dosaggio di queste sostanze: le scarse richieste di questi test per pazienti tossicodipendenti ed il limitato riscontro di risultati positivi non permettono per ora, una completa valutazione definitiva della determinazione di queste sostanze (18).

Una critica che si può rilevare a ToxSTATus™ è la scarsa praticità della lastrina, specialmente nel caso di esecuzione di una consistente serie di campioni. Generalmente al laboratorio i campioni di urina arrivano in provetta 16x23 mm (vol. 10 mL): per l'esecuzione dei test è stato necessario travasare i campioni nei classici contenitori da urinocultura, in modo da poter immergere la lastrina per il tempo indicato. E' anche vero però che per i test eseguiti a livello ambulatoriale, il campione di urina può essere raccolto proprio in questi contenitori e non in provette.

Per n°3 (4,6%) campioni è stato necessario ripetere l'esecuzione del test per difficoltà interpretative del risultato, ciò per la presenza di deboli linee di negatività specialmente per quelle sostanze presenti nel campione a concentrazioni di poco superiori al valore di cut-off (es. camp. n°1 per la Cocaina).

Da notare (Tab. 4) un buon comportamento di ToxSTATus™ con i materiali di controllo.

Di fronte a generali difficoltà interpretative dei risultati e di gestione degli stessi, numerose sono le raccomandazioni che riguardano l'uso di test rapidi per droghe d'abuso (17). Tutti i tipi di test rapidi, prima del loro effettivo impiego, dovrebbero essere valutati da un laboratorio avente Personale con professionalità ed esperienza specifiche. Tutti gli operatori, che si troveranno nella necessità di utilizzare test rapidi, dovrebbero seguire un adeguato periodo di istruzione e familiarizzazione. Deve essere

garantito inoltre sia il Controllo di Qualità Interno che la Valutazione Esterna di Qualità, il tutto coordinato dal laboratorio di riferimento, nel rispetto della normativa CLIA (USA) del 1988 (19).

Tutte le indicazioni per un corretto stoccaggio dei materiali utilizzati e per il loro uso devono essere rigorosamente rispettate. Infine, prima dell'impiego di un test rapido dovrebbe essere eseguita anche un'indagine in termini di costo/beneficio per il suo utilizzo.

Solo in questo modo, tra quanto effettuato a livello decentrato e quanto fatto dal laboratorio di riferimento, può portare l'attività di laboratorio ad un sicuro miglioramento del servizio e a dotarsi di una funzionalità non solo efficiente ma anche efficace (1).

## BIBLIOGRAFIA

1. Plebani M. Hospital Point of Care: un modello da importare? Come, quando, perché. *EsaDia. Riviste di attualità diagnostiche*.
2. Warnick GR, Boerma GJM, Assmann G, Endler AT, Gerique G et al. Multicenter evaluation of Reflotron direct dry chemistry assay of high-density lipoprotein. Cholesterol in venous and fingerstick specimens. *Clin Chem* 1993;39:271-277.
3. Collinson PO, Gerhardt W, Katus HA, Mueller-Bardorfs M, Braun S et al. Multicentre evaluation of an immunological rapid test for the detection of troponin T in whole blood samples. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:591-598.
4. Van den Besselaar AMHP, Breddin K, Lutze G, Parker-Williams J, Taborski U et al. *Blood Coag Fibrinol* 1995;6:726-732.
5. Towt J, Tsai SCJ, Hernandez MR, Klimov AD, Kravec CV et al. ONTRAK TESTCUP: a novel, on-site, multi-analyte screen for the detection of abused drugs. *J Anal Toxicol* 1995;19:504-510.
6. Buechler KF, Moi S, Noar B, McGrath D, Villel J et al. Simultaneous detection of seven drugs of abuse by the Triage™ panel for drugs of abuse. *Clin Chem* 1992;38:1678-1684.
7. Parson RG, Kowal R, LeBlond D, Yue VT, Nearing L et al. Multianalyte assay system developed for drugs of abuse. *Clin Chem* 1993;39:1899-903.
8. Klimov AD, Tsai SCJ, Towt J, Salamone SJ. Improved immunochromatographic format for competitive-type assays. *Clin Chem* 1995;41: 1360.
9. Bradshaw P, Fitzgerald D, Stephens L, Baddam S, Doe J et al. FlexSure™ test device: qualitative immunochromatographic test format. *Clin Chem* 1995;41:1360.
10. De la Torre R, Domingo-Salvany A, Badia R, Gonzalez G, McFarlane D et al. Clinical evaluation of the Triage® analytical device for drugs-of-abuse testing. *Clin Chem* 1996;42:1433-1438.
11. Wennig R, Asselborn G. Evaluation of the new immunoassay TRIAGE. Proceedings of the 30th TIAFT meeting, Fukuoka, Japan, 1992;43-48.
12. Insook K, Barnes AB, Schepers R, Moolchan ET, Wilson L et al. Sensitivity and Apecificity of the Cozart Microplate EIA Cocaine Oral Fluid at Screening and Confirmation Cutoffs. *Clin Chem* 2003;49:9,1498-1503.
13. Towt J, Tsai SCJ, Hernandez MR, Klimov AD, Kravec CV, et al. ONTRAK TESTCUP: a novel, on-site, multi-analyte screen for the detection of abused drugs. *L Anal Toxicol* 1995;19:501-10.
14. Brown ERS, Jarvie DR, Simpson D. Evaluation of Bionike one-step tests for the detection of drugs of abuse in urine.

**Tabella 4**

Materiali di controllo Liquicheck™.

Campioni	Sostanza d'abuso	ToxStatus
Liquicheck™ N cod. 460	Oppiacei Metadone Amfetamine Cocaina THC	negativo
Liquicheck™ S1 low opiate cod. 466	Oppiacei Metadone Amfetamine Cocaina THC	Debole comparsa delle linee di negatività
Liquicheck™ S2 low opiate cod. 467	Oppiacei Metadone Amfetamine Cocaina THC	positivo

- Ann Clin Biochem 1997;34:74-80.
15. Wennig R, Moeller MR, Haguenoer JM, Marocchi A, Zoppi F et al. Development and evaluation of immunochromatographic rapid tests for screening of cannabinoids, cocaine and opiates in urine. *J Anal Toxicol* 1998;22:148-55.
  16. Crouch DJ, Frank JF, Farrell LJ, Karsch HM, Klaunig JE. A multiple-site laboratory evaluation of three on-site urinalysis drug-testing devices. *J Anal Toxicol* 1998;22:493-502.
  17. George S, Braithwaite RA. Use of on-site testing for drugs of abuse. *Clin Chem* 2002;48,10:1639-46.
  18. Marchioro L, Bassetto F, Dall'Olio G, Tedeschi L, Castagna F et al. Amphetamines and 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA): Evaluation of Kims (Kinetic Interaction of Microparticles in Solution) Assay at two Cut-off levels. *Clin Chem Lab Med* (In press).
  19. Ehrmeyer SS, Laessig RH. Regulatory requirements (CLIA '88, JCAHO, CAP) for decentralized testing. *Am J Clin Pathol* 1995;104:540-9.