

### AMBALARE

R1: 1 x 42 ml

R2: 1 x 16 ml

### SCOPUL UTILIZARII

Analiza imunoenzimatica a metabolitilor cocainei (EIA) este un sistem de imunotestare enzimatic omogen destinat utilizarii in analiza calitativa si semi-cantitativa a benzoilecgoninei (metabolit al cocainei) in urina umana. **Analiza ofera doar un rezultat analitic preliminar. Pentru a obtine un rezultat analitic confirmat este necesara utilizarea unei metode chimice alternative mai specifice. Metoda preferata de confirmare este cromatografia de gaz / spectrometria de masa (GC / MS).** **Consideratia clinica si rationamentul profesional trebuie sa fie exercitate asupra oricarui rezultat, pentru a stabili tratamentul sau terapia adecvata.**

### PRINCIPIUL METODEI

Imunotestul pentru benzoilecgonina 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 care este masurata in termeni de activitate enzimatica.

In absenta medicamentului din proba, conjugatul G6PDH marcat cu benzoilecgonina este legat de anticorp si activitatea enzimatica este inhibata. Pe de alta parte, atunci când medicamentul liber este prezent in proba, anticorpul se va lega de medicamentul liber; G6PDH marcat cu benzoilecgonina nelegat prezinta apoi activitatea maxima a enzimei. Enzima activa converteste nicotinamid-adenin dinucleotida (NAD) la NADH, rezultând o schimbare de absorbție care poate fi masurata spectrofotometric la 340 nm.

### SEMNIFICATIA TESTULUI

Cocaina (metilbenzoilecgonina) este un alcaloid gasit in planta *Erythroxylon coca*, care este cultivata in principal in America de Sud. Este chimic, dar nu farmacologic, legata de atropina.

Cocaina este un stimulant al SNC; totusi, aceasta prezinta si numeroase efecte secundare nedorite, incluzând reactii de toxicitate cardiaca si comportament cum ar fi paranoia si halucinatiile. Cea mai importanta actiune clinica a cocainei este abilitatea acesteia de a bloca conductanta nervoasa la aplicarea locala.

Cocaina vânduta pe strada include sare clorhidrat si cocaina 'crack'. Sarea este frecvent abuzata prin inhalare sau prin injectare intravenoasa. Crack-ul este o forma de baza libera de cocaina care produce un sunet caracteristic de crapare atunci când este fumat.

Cocaina este metabolizata rapid, cu o valoare mai mica de 5% excretata neschimbata in urina. Metabolitul principal este benzoilecgonina. Alti metaboliti notabili sunt metilecgonina si ecgonina. Metabolitul cocainei este detectabil in urina timp de 1-3 zile dupa utilizarea moderata. Cu toate acestea, pentru utilizarea pe termen lung, metabolitii pot fi gasiti in urina timp de pâna la 3 saptamâni. Cocaina trece usor prin placenta in fat.

Abuzul de cocaina in timpul sarcinii poate afecta negativ dezvoltarea fatului si poate provoca probleme grave la nou-nascut.

### REACTIVI

**Anticorp / reactivsubstrat (R1):** Contine anticorpi monoclonali de soarece pentru benzoilecgonina, glucoz-6-fosfat (G6P), nicotinamidadin dinucleotida (NAD), stabilizatori si azid de sodiu ca conservant.

**Reactiv conjugat enzima-medicament (R2):** Contine glucozo-6-fosfat dehidrogenaza (G6PDH) marcata cu benzoilecgonina in solutie tampon cu conservant azida de sodiu.

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

### CALIBRATORI SI CONTROALE

**Urina umana negativa (nivelul 0):** Contine urina umana negativa cu conservant azida de sodiu.

#### Calibrator Urina Multidrug :

**Calibrator Multidrug Nivel 0:** Contine urina umana negativa cu conservant azida de sodiu.

**Calibrator Multidrug Nivel 1:** Contine 150 mg / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Calibrator Multidrug Nivel 2:** Contine 300 mg / ml benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Calibrator Multidrug Nivel 3:** Contine 500 mg / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Calibrator Multidrug Nivel 4:** Contine 1000 mg / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Calibrator multidrug Low Cut-off:** Contine 150 mg / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Calibrator Multidrug High Cut-Off:** Contine 300 mg / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Control Multidrug Low Cut-off:** Contine 112,5 si 187,5 ng / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

**Control multidrug High Cut-Off:** Contine 225 si 375 ng / mL benzoilecgonina in urina umana cu conservant azida de sodiu.

### PREPARARE

Reactivii sunt gata de utilizare. Nu este necesara pregatirea reactivului.

Toate componentele testului trebuie pastrate la frigider atunci când nu sunt folosite.

### AVERTISMENT SI PRECAUTII

Acest test este destinat numai utilizarii diagnostice in vitro. Daunator daca este inghitit.

Reactivii utilizati in analiza contin azid de sodiu care poate reactiona cu plumb sau cupru pentru a forma azida metalica potential exploziva. Atunci când 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 când 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 amendamentele ulterioare la clasificarea ambalajelor si etichetarea substantelor periculoase.

### RECOLTAREA PROBELOR

Esantioanele de urina pot fi colectate in recipiente din plastic sau din sticla.

Unele materiale plastice pot absorbi medicamente. Utilizati un specimen proaspăt de urina pentru test. Daca proba nu poate fi analizata imediat, aceasta poate fi pastrata la frigider timp de pâna la 3 zile. Pentru depozitare mai lunga pastrati proba congelata si apoi dezghetati inainte de utilizare. Probele trebuie aduse la temperatura camerei de 18-25°C pentru testare. Probele cu turbiditate ridicata trebuie centrifugate inainte de analiza. Probele de urina din intervalul normal de pH de 5-8 pot fi testate fara niciun tratament prealabil. Probele de urina proaspete si bine depozitate sunt, in general, in acest interval. Probele cu pH in afara intervalului trebuie ajustate pentru a se incadra in acest interval cu HCl 1M sau NaOH 1M inainte de testare.

Falsificarea poate cauza rezultate eronate. In cazul in care se suspecteaza falsificarea probei, se obtine un esantion nou si ambele esantioane trebuie transmise la laborator

Manipulati toate probele de urina ca si cum ar fi potential infectioase.

### INSTRUMENTAR NECESAR

Analizoare 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

Analizoare 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 pentru analizoarele includ un esantion la reactiv anticorp (R1) la reactiv conjugat enzimatic (R2) raport de 1: 10: 3,75 , respectiv; o temperatura de incubare de 37°C, cadre de citire de 2-4 minute si o lungime de unda primara de 340 nm.

### 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 5 puncte.

Nivelurile de calibrare (ng / ml)		Nivelurile de control (ng / ml)
CALITATIV	Semicantitativ	
Low cut-off (150)	Nivel 0 (0)	Control - 25% (112,5) Control 25% (187,5)
	Nivel 1 (150) Nivel 2 (300)	
High cut-off (300)	Nivel 3 (500)	Control - 25% (225) Control 25% (375)
	Nivel 4 (1000)	

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

### INTERPRETARE

Pentru determinarile calitative, calibratorul cut-off (150 sau 300ng / mL) de benzoilecgonina este utilizat ca referinta pentru diferentierea probelor pozitive fata de probele negative. O proba cu o modificare a absorbtiei ( $\Delta$  mA / min) egala sau mai mare decât cea obtinuta cu calibratorul cut-off este considerata pozitiva. O proba cu o valoare a absorbtiei mai mica decât cea obtinuta cu calibratorul cut-off este considerata negativa.

Pentru determinarile semi-cantitative, este necesara o curba de calibrare cu calibratori multipli. Concentratia metabolitului de cocaina 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.

Curba de calibrare poate fi validata cu nivelurile de control 112,5 si 187,5 ng / ml sau nivelurile 225 si 375 ng / mL sau cu controale comerciale.

### LIMITARI

Un rezultat pozitiv al analizei indica numai prezenta metabolitului cocainei.

Pentru detalii privind metodele recomandate de testare a confirmarii, consultati instructiunile de utilizare aferente.

Testul este destinat utilizarii doar cu urina umana.

### PRECIZIE

Conform standardelor EP5 (NCCLS), reactivul a fost testat timp de 20 de zile, măsurând fiecare nivel pe duplicat de doua ori pe zi (n = 80).

#### Analiza calitativa:

	CV (%)		
	Cut-off 150 ng/mL		
	112,5 ng/ml	150 ng / ml	187,5 ng / ml
Media (mAU / min)	354.8	363.1	372.4
Total	1,2%	1,3%	1,2%
Intra-test	0,4%	0,4%	0,3%
Inter-test	0,6%	0,6%	0,6%
In aceeasi zi	1,0%	1,1%	1,0%

	Cut-off 300 ng/mL		
	225 ng / ml	300 ng / ml	375 ng / ml
	Media (mAU / min)	377.4	387
Total	1,3%	1,2%	1,2%
Intra-test	0,4%	0,4%	0,3%
Inter-test	0,6%	0,7%	0,6%
In aceeasi zi	1,1%	1,0%	1,0%

	Cut-off 150 si 300 ng / ml	
	0 ng / ml	1000 ng / ml
	Media (mAU / min)	299
Total	1,2%	1,1%
Intra-test	0,5%	0,4%
Inter-test	0,5%	0,5%
In aceeasi zi	1,0%	0,9%

#### Analiza semi-cantitativa:

	CV (%)		
	Cut-off 150 ng / ml		
	112,5 ng / ml	150 ng / ml	187,5 ng / ml
Media (ng / ml)	121,2	149,9	188,7
Total	7,6%	6,6%	6,8%
Intra-test	4,3%	3,9%	2,5%
Inter-test	5%	4,1%	5,5%
In aceeasi zi	3,9%	3,5%	3,2%

	Cut-off 300 ng/mL		
	225 ng / ml	300 ng / ml	375 ng / ml
	Media (ng / ml)	212,9	266
Total	6,7%	5,7%	6,9%
Intra-test	3,3%	2,7%	3,2%
Inter-test	4,5%	3,7%	4,7%
In aceeasi zi	3,7%	3,4%	3,9%

### PRECIZIE

Au fost testate 52 de probe de urina dintr-o schema externa de asigurare a calitatii (UKNEQAS) folosind GC-MS. Rezultatele obtinute de la toate laboratoarele participante au fost medii pentru a da concentratia definitiva de medicament in esantion. Aceleasi 52 de probe au fost analizate utilizând EIA lichid si rezultatele au fost comparate.

13 probe au fost testate pozitiv de EIA lichid, iar aceleasi 13 probe au fost confirmate pozitive de catre GC-MS.

39 de probe au fost testate negative de EIA lichid, iar aceleasi 39 de probe au fost confirmate negative de catre GC-MS.

Nu au existat seturi de date nepotrivite.

### SPECIFICITATE

Diferite 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 (300ng / 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:

11-hidroxi- $\Delta$ 9-THC	EDDP
11-nor9-carboxi- $\Delta$ 9-THC	EMDP
6-Acetil-Morfina	Efedrina
Amitriptilina	Heroina
Amobarbital	LAAM
Amfetamina	MBDB
Aspirina	MDA
$\beta$ -feniletilamina	MDEA
Canabidiol	MDMA
clorfeniramin	Metadona
Codeina	Metamfetamina
Cotina	Morfina
Delta9-THC	Oxicodona
Diazepam	Paracetamolul
Dihidrocodeina	Pseudoefedrina
Ester metilic al ecgoninei	Temazepam





Urmatoarele cocainice vor produce un raspuns pozitiv fata de cut-off 300 ng / ml la urmatoarele concentratii:

Compus	Concentratia (ng / ml)
Cocaetilena	100.000
Cocaina	100.000

### BIBLIOGRAFIE

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 Program, National Institute on Drug Abuse, Federal Register, vol. 53, No. 69, pp11970 (1988)
3. Goodman, L.S., and A. Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 4<sup>th</sup> edition, 380, The MacMillan Co., 1970
4. Bouknight, L.G. and R.R. Bouknight. Cocaine- A Particularly Addictive Drug, Postgrad. Med. 83, 115, 1988
5. Benowitz, NL. Clinical Pharmacology and Toxicology of Cocaine, Pharmacol.
6. Weiss, R.D. and F.H. Gawin. Protracted Elimination of Cocaine Metabolites in Long-term, High-dose Cocaine Abusers. A.m. J. Med., 85, 879, 1988
7. Burke, W.M. et al, Prolong Presence of Metabolite in Urine after Compulsive Cocaine Use, J. Clin. Psychiatry, 51, 145, 1990
8. 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

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