

**Prueba Cocaína (COC) UN PASO****(Orina)****SOLO PARA USO DE DIAGNOSTICO IN VITRO****USO DESTINADO**

LA PRUEBA DE COCAÍNA ADVANCE QUALITY™ UN PASO ES UN INMUNOENSAYO QUALITATIVO RÁPIDO, PARA LA DETERMINACIÓN DE BENZOILECGONINA, EL MAYOR METABOLITO DE COCAÍNA EN ORINA HUMANA. LA PRUEBA SE UTILIZA EN EL ANÁLISIS DE LA ORINA PARA DETECTAR LA PRESENCIA DE BENZOILECGONINA EN UN PUNTO DE CONCENTRACIÓN DE 300NG/ML. LA PRUEBA SOLO DEBE SER UTILIZADA POR UN PROFESIONAL DE LA SALUD.

Esta prueba sólo prevee un resultado preliminar analítico. Debe utilizarse un método químico alternativo más específico con el fin de obtener un resultado analítico confirmado. El método preferente a utilizar como confirmatorio es cromatografía de gases / espectrometría de masas (GC/MS). Consideraciones clínicas y criterio profesional deben aplicarse en cualquier resultado de pruebas de drogas, particularmente cuando se indican resultados positivos preliminares.

RESUMEN Y EXPLICACION E LA PRUEBA

La cocaína es derivada de las hojas de la planta de coca y es un potente estimulante del sistema nervioso central tanto como una anestesia local. Algunos de los efectos psicológicos inducidos por la Cocaína son: euforia, confianza y sensación de incremento de energía, acompañada de un incremento en los latidos del corazón, dilatación de las pupilas, fiebre, temblores y sudoración. Una ingestión continua de cocaína puede inducir tolerancias y dependencias fisiológicas la cual conduce a su abuso. La Cocaína es rápidamente absorbida, casi completamente metabolizada por el hígado y excretada en la orina como Benzoilecgonina. La Benzoilecgonina tiene una vida biológica media de 5 a 8 horas, la cual es mucho más larga que la Cocaína (0.5 a 1.5 horas), y puede ser generalmente detectada de 12-72 horas después del uso de cocaína o su exposición.^{5,8}

La prueba the Cocaína Advanced Quality detecta Benzoilecgonina en orina en concentración de 300ng/mL y mayor según recomendado por SAMSHA (NIDA)².

La prueba es un inmunoensayo cualitativo de detección visual. Este método emplea anticuerpos únicos para identificar selectivamente la droga en la prueba de orina con un alto grado de sensibilidad y especificidad.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El dispositivo de prueba consiste en un dispositivo cromatográfico absorbente en el cual la droga o metabolitos de drogas en la muestra compiten con un conjugado de droga inmovilizado en un soporte de membrana porosa para los sitios limitados de anticuerpos. Como la muestra de la prueba fluye a través del dispositivo absorbente, el anticuerpo-colorante marcado se une a la droga en la muestra formando un complejo anticuerpo-antígeno. Este complejo compete con antígeno conjugado inmovilizado en la zona de reacción positiva y no producirá una banda color magenta cuando la droga está por encima del nivel de detección sugerida para el método de inmunoensayo. Una tintura desconsolidada conjugada se une al reactivo en la zona de control negativa, produciendo una banda color magenta, demostrando que el reactivo y el dispositivo funcionan correctamente.

Un especimen **negativo** produce dos (2) bandas distintas de color, una en el área de prueba y otra en la zona de control.

Un especimen **positivo** produce solo una (1) banda de color en la zona de control.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS**PARA LA PRUEBA EN TIRILLA:**

1. Tirilla de prueba individualmente foliada con un disecante
2. Vaso de orina
3. Literatura

PARA LA PRUEBA EN MENBRANA:

1. Prueba en cassette individualmente foliada con un disecante
2. Vaso de orina
3. Literatura

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Contenedores colectores de orina (para pruebas en cassette)
2. Reloj o temporizador
3. Controles de orina positivos y negativos.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso profesional in vitro.
2. Evite contaminación cruzada de muestras de orina por el uso de un vaso nuevo de orina para cada muestra.
3. No utilice el kit después de la fecha de expiración indicada en la parte externa del empaque.
4. No abra el empaque hasta que la muestra de orina sea colectada y este lista para ser probada.
5. Las muestra de orina podrían ser infecciosas. Maneje y deseche todas las muestras y dispositivos utilizados en un contenedor de seguridad biológica aprobado.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El dispositivo de prueba puede ser conservado bajo refrigeración y a temperatura ambiente (2-30°C) y será estable hasta la fecha de expiración. No abra el empaque hasta que la prueba esté lista.

COLECCIÓN DE PRUEBAS Y PREPARACION

Colectar 10ml de orina en un contenedor limpio, seco, plástico o cristal que no contenga preservativos. Algunos plásticos pueden absorber drogas. Si no se hará la prueba inmediatamente, las muestras de orina deben conservarse refrigeradas a 2-8°C por hasta 7 días y después refrigerarse (-20°C á más frío) antes del ensayo. Muestras refrigeradas ó congeladas deben llevarse a temperatura ambiente y mezclar suavemente antes de hacer la prueba. Las muestras de orina que presenten turbidez o precipitado deben centrifugarse ó dejar reposar por lo que una parte alícuota claro puede ser muestreado para este ensayo. La colección de muestras requiere procedimientos obligatorios, custodia y registros de control. La ingesta de semillas de amapola puede asociarse con un resultado positivo en algunas muestras.

PROCEDIMIENTOS DEL ENSAYO**PARA LA PRUEBA EN TIRILLA:**

1. Llevar todos los materiales y especímenes a temperatura ambiente.
2. Remover la tirilla de prueba del empaque sellado.
3. Sumerja la tira de prueba dentro de la muestra de orina con las flechas señalando hacia el espécimen.
4. El nivel de la orina debe alcanzar la línea máxima marcada en la tirilla, pero no debe exceder la línea máxima.
5. Mantenga la tirilla en la orina hasta que un color rojizo aparezca en el borde inferior de la membrana de la prueba (aproximadamente 10 segundos).
6. Retire la tirilla y coloquela boca arriba en una superficie limpia y seca.
7. Lea los resultados entre 3-8 minutos después de haber añadido la muestra.

PARA LA PRUEBA EN MENBRANA:

1. Llevar todos los materiales y especímenes a temperatura ambiente.
2. Remover la membrana de prueba del empaque sellado.
3. Coloque la prueba en una superficie lisa y seca.
4. Usando el gotero plástico suministrado, coloque 3 gotas de la orina en el pocillo para la muestra de la membrana. Iniciar el cronometraje.
5. Lea los resultados entre 3-8 minutos después de agregar la muestra.

LECTURA DE LOS RESULTADOS

Leer los resultados entre 3-8 minutos.

No interprete los resultados después de 8 minutos.

NEGATIVO: se forman dos (2) bandas rosa/morado. En adición a la banda de control, una banda rosa/morada también aparece en la zona de la prueba.

Nota: Este inmunoensayo en una prueba de análisis. Un resultado negativo indica que el nivel de droga está por debajo de la sensibilidad de detección. Es importante entender que concentración de la droga por debajo del corte puede causar una débil "línea fantasma" a formar en la región de la prueba. Esta "línea fantasma" debe ser considerada como un resultado negativo.

POSITIVO: Una (1) banda rosa/morada aparece en la zona de control. Ninguna banda es encontrada en la región de la prueba. Esto es una indicación de que el nivel de droga es por encima del nivel de la sensibilidad de detección.

INVALIDO: Si no hay una banda rosa/morada en el área de control de la prueba, el resultado es inválido. Reprobe la muestra usando un nuevo dispositivo.

Consideraciones clínicas y criterio profesional deben aplicarse en cualquier resultado de pruebas de drogas, particularmente cuando se indican resultados positivos preliminares. Los resultados positivos deben confirmarse por un método alternativo como GC/MS.

CONTROL DE CALIDAD

- Cada dispositivo de prueba tiene una banda de control que indica que el volumen de la muestra y su migración es adecuada, y que el oro coloidal es disuelto como se esperaba. Un resultado inválido debe repetirse usando un nuevo dispositivo.
- Positivo y negativo, el control de orina libre de droga puede ser usado para validar el rendimiento del reactivo y establece la confiabilidad de la prueba. Existen disponibles controles de droga en orina, pero no son proporcionados en esta prueba. La NIDA recomienda directrices para que los controles de análisis de drogas de abuso deben contener la droga a un nivel al menos de un 20% sobre el valor de corte de la NIDA. Si los valores de control no caen dentro de los límites establecidos, el ensayo resulta inválido.

RESULTADOS ESPERADOS

La prueba de Cocaína Advanced Quality identifica Benzoilecgonina en orina humana en la concentración de corte de 300ng/mL. La centración de la droga no puede ser determinada usando esta prueba. La prueba está destinada a analizar orina para separar un resultado negativo de un presunto resultado positivo. Todos los resultados positivos deben ser confirmados usando un método alternativo, preferiblemente GC/MS.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Precisión

Una evaluación comparativa de 100 muestras clínicas de orina fueron realizadas usando la prueba de Cocaína Advanced Quality One Step y una prueba cualitativa EIA de semianálisis comercialmente disponible. Ambas pruebas tienen una concentración de corte de 300ng/mL Benzoilecgonina (tabla 1). La concentración de droga en las muestras cubre todo el rango de ensayo e incluyen 20 muestras cerca del corte de concentración. La precisión de la prueba Cocaína Advanced Quality One Step fue de un 88%. Todos los resultados fueron confirmados con GC/MC pruebas de Benzoilecgonina. Los doce resultados discrepantes fueron entre 272-471 ng/mL de Benzoilecgonina.

TABLA 1- RESUMEN DE COMPARACION

EIA Comercial	AQ(+)	AQ(-)	Total filas
(+)	48	12	60
(-)	0	40	40
Total columnas	48	52	100

Precisión

Tres lotes de la prueba Cocaína fueron ensayados utilizando controles de orina conteniendo 0ng/mL, 236 ng/mL, 316 ng/mL y 472 ng/mL Benzoilecgonina por 20 días.

Tres personas leyeron los resultados por separado. Un resultado positivo correcto fue obtenido por todas las personas, 100% del tiempo con 316 ng/l y la concentración de 472 ng/ml. Un resultado correcto negativo fue encontrado por todas las personas, 100% del tiempo con la concentración 0 ng/ml. El nivel 236 ng/ml varió algo dependiendo de la experiencia del observador. El observador inexperto informó este nivel como positivo 100% todo el tiempo, mientras los dos expertos reportaron resultados 100% negativos todo el tiempo.

Sensibilidad

Diferentes concentraciones de Benzoilecgonina fueron probados y los resultados fueron resumidos en la tabla 2. Algunos usuarios, pueden encontrar resultados variables sobre +/- 35% del corte de la prueba Cocaína Advanced Quality. Pruebas GC/MS deben ser realizadas para confirmar los resultados.

TABLA 2

COMPOSICIÓN	NIVEL DE REACTIVIDAD			
Benzoilecgonina	0ng/mL	150ng/mL	300ng/mL	375ng/mL
#Resultados#Probados	25/25Neg	25/25Neg	25/25Pos	25/25Pos

Especificidad e interferencia de sustancias

TABLA 3 – COMPUESTO QUE PRODUCE UNA REACCION POSITIVA

Cocaína	15,000 ng/ml
Ecgonina	100,000 ng/ml
Tropacocaína	100,000 ng/ml

Los siguientes compuestos no interfieren con la prueba AQ Cocaína.

Glucosa	2000mg/dl	Acido Urico	10mg/dl
Albumina humana	2000mg/dl	Urea	4000mg/dl
Hemoglobina	10mg/dl	Bilirrubina	2 mg/dl

TABLA 4. COMPUESTOS QUE DAN RESULTADOS NEGATIVOS EN CONCENTRACIONES HASTA 100 NG/ML (SALVO QUE SE INDIQUE)

4-Acetamidofenol	Meperidina(200ug/mL)	Efedrina
Acido Acetilsalicílico	Metadona	Acido Gentísico
Amikacina	D,l, Metanfetamina	Histamina guayacol éter glicerilo
Etil-p- aminobenzoato	D, Metanfetamina	Homatropina
Amitriptilina	Morfina	Imipramina
Anfetamina	Naloxona	Isoproterenol
Arterenol	Neomicina	Ketamina
Aspartame	Niacinamida	Lidocaina
Atropina	11-Nor-8-THC-9-COOH(10ug/mL)	Pseudofedrina
Cafeína	11-Nor-9-THC-9-COOH(10ug/mL)	Ranitidina
Alcanfor	Oxazepam	Acido Salicílico
Clorfeniramina	Fenciclidina	Tetraciclina
Cortisona	Fenobarbital	Tetrahidrozolina
Deoxyepinefrina	Feniletilamina	Teofilina
Dextrometorfano	5.5-difenilhidantoina	Tioridazina
Digitoxina	Fenilpropalamina	Trifluoperazina
Digoxina	Procaina	Prometazina
Epinefrina		

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- Este producto está diseñado para ser usado sólo en la detección de Benzoilecgonina en orina humana.
- Aunque la prueba Cocaína Advanced Quality One Step es muy precisa en la detección de metabolitos de Cocaína en orina, existe la posibilidad de resultados falsos frente a la presencia de sustancias interfirientes.
- La prueba es un ensayo cualitativo y no es sugerido para la determinación el nivel de cocaína cuantitativa en la orina.
- Adulteraciones, como el blanqueador o otros fuertes agentes oxidantes, cuando cuando se añade a las muestras de orina, pueden producir resultados erróneo sin tener en cuenta el método de análisis utilizado. Si se sospecha adulteración, obtenga otra muestra de orina.
- Existe la posibilidad que otras sustancias y/o factores no mencionados interfieran con la prueba y puedan causar resultados falsos, ejp. Técnicas o procedimientos erróneos.
- Un resultado positivo indica la presencia de Benzoilecgonina en orina. Este resultado no indica el nivel de intoxicación ni pretende monitorear los niveles de droga.
- Los resultados pueden ser confirmados usando un método alternativo. GC/MS es el método preferido confirmatorio.

BIBLIOGRAFIA

- Mandatory guidelines for federal workplace drug testing programs; Final guidelines: Notice, Fed. Regist., 53(69): 1 1970-1 1989 (1988).
- Urine Testing for Drugs of Abuse. National Institute on Drugs of Abuse (NIDA Research Monograph) 73,1 986.
- CSAP Technical Report 12 Urine Specimen Collection Handbook for Federal Workplace Drug Testing Programs, SAMSHA, Center for Substance Abuse Prevention.
- Pearman K: Cocaine: A review, J Laryngol Otol 1979;93; 1191-1199.
- Stewart DJ et al: Cocaine metabolism: Cocaine and norcocaine hydrolysis by liver and serum esterases.Clin Pharmacol Ther 1978 25..464468.
- Baselt RC, Cravey RH: Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man, ed 3 Chicago, IL, Year Book Medical Publishers Inc, 1989, pp 208-213.