

# Kit de pruebas rápidas Antidoping

(Sangre/suero/plasma)

## Uso deseado

La presentación cuenta con tres cartuchos, cada uno dedicado a la detección de una droga en particular. El uso deseado para cada uno de los cartuchos es el siguiente:

**El cartucho de prueba rápida de COC** es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección de cocaína en sangre completa, suero o plasma a una concentración de corte de 50 ng/mL.

**El cartucho de prueba rápida AMP** es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección de anfetamina en sangre completa, suero o plasma a una concentración de corte de 80 ng/mL.

**El cartucho de prueba rápida de THC** es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección de marihuana en sangre total, suero o plasma a una concentración de corte de 35 ng/mL.

Estos ensayos proporcionan un resultado cualitativo preliminar analítico. Se debe utilizar un método químico alternativo más específico para obtener un resultado analítico confirmado. La cromatografía de gases/espectrometría de masas (GC/MS) es el método de confirmación preferido. Se debe aplicar consideración clínica y juicio profesional a cualquier resultado de prueba de drogas de abuso, particularmente cuando se utilizan resultados preliminares positivos.

## Resumen

- COC:** La cocaína es un potente estimulante del sistema nervioso central y un anestésico local. Inicialmente, provoca una energía e inquietud extremas, gradualmente da como resultado temblores, hipersensibilidad y espasmos. En grandes cantidades, la cocaína provoca fiebre, falta de respuesta, dificultad para respirar y pérdida del conocimiento. La cocaína a menudo se autoadministra por inhalación nasal, inyección intravenosa y cuando es fumada. Se excreta en la sangre total, suero o plasma en poco tiempo principalmente como benzoilecgonina. (1, 2) La benzoilecgonina, un metabolito principal de la cocaína tiene una vida media biológica más larga (5-8 horas) que la cocaína (0.5-1.5 horas), y generalmente se puede detectar durante 24 a 48 horas después de la exposición a la cocaína (2).
- AMP:** La anfetamina es una sustancia controlada de la fracción II disponible con receta (Dexedrine®) y también está disponible en el mercado ilícito. Las anfetaminas son una clase de agentes simpaticomiméticos potentes con aplicaciones terapéuticas. Están relacionados químicamente con las catecolaminas naturales del cuerpo humano: epinefrina y norepinefrina. Las dosis agudas más altas conducen a una mayor estimulación del sistema nervioso central e inducen euforia, estado de alerta, reducción del apetito y una sensación de mayor energía y poder. Las respuestas cardiovasculares a las anfetaminas incluyen aumento de la presión arterial y arritmias cardíacas. Las respuestas más agudas producen ansiedad, paranoia, alucinaciones y comportamiento psicótico. Los efectos de las anfetaminas generalmente duran de 2 a 4 horas después de su uso, y el medicamento tiene una vida media de 4 a 24 horas en el cuerpo. Aproximadamente el 30% de las anfetaminas se excretan en la sangre total, el suero o el plasma en forma inalterada, y el resto como derivados hidroxilados y desaminados (1).
- THC:** El THC (9-tetrahidrocannabinol) es el ingrediente activo principal del cannabis (marihuana). Cuando se fuma o se administra por vía oral, el THC produce efectos eufóricos. Los usuarios tienen una memoria a corto plazo deteriorada y un aprendizaje más lento. También pueden experimentar episodios transitorios de confusión y ansiedad. El uso prolongado y relativamente intenso puede estar asociado con trastornos del comportamiento. El efecto máximo de la marihuana administrada al fumar se produce en 20-30 minutos y la duración es de 90-120 minutos después de un cigarrillo. Los niveles elevados de metabolitos urinarios se encuentran en horas de exposición y permanecen detectables durante 3-10 días después de fumar. El principal metabolito excretado en la sangre total / suero / plasma es el ácido 11-nor-(9-tetrahidrocannabinol-9-carboxílico (THC-COOH) (1).

## Principio

Los tres cartuchos de prueba rápida incluidos (COC, AMP y TCH) son inmunoensayos basados en el principio de unión competitiva. Los fármacos que pueden estar presentes en las muestras de sangre completa/suero/plasma compiten contra los conjugados del fármaco por los sitios de unión de los anticuerpos correspondientes.

Durante las pruebas, las muestras migran hacia arriba por acción capilar. La cocaína, la anfetamina o la marihuana en caso de estar presentes en las muestras por debajo del nivel de corte, no saturarán los sitios de unión de los anticuerpos en las pruebas.

**COC:** Las partículas recubiertas de anticuerpo serán capturadas por el conjugado de proteína-Cocaína inmovilizado y aparecerá una línea de color visible en la región de la línea de prueba. La línea de color no se formará en la región de la línea de prueba si el nivel de cocaína excede el nivel de corte porque saturará todos los sitios de unión de los anticuerpos anti-cocaína.

**AMP:** Las partículas recubiertas de anticuerpo serán capturadas por el conjugado proteína-Anfetamina inmovilizado y aparecerá una línea de color visible en la región de la línea de prueba. La línea de color no se formará en la región de la línea de prueba si el nivel de anfetamina excede el nivel de corte porque saturará todos los sitios de unión de los anticuerpos anti-anfetamina.

**TCH:** Las partículas recubiertas de anticuerpos serán capturadas por el conjugado de proteína-Marihuana inmovilizado y aparecerá una línea de color visible en la región de la línea de prueba. La línea de color no se formará en la región de la línea de prueba si el nivel de marihuana excede el nivel de corte porque saturará todos los sitios de unión de los anticuerpos anti-marihuana.

Una muestra de sangre completa / suero / plasma positivo al fármaco no generará una línea de color en la región de la línea de prueba debido a la competencia del fármaco, mientras que una muestra de sangre completa / suero / plasma negativo al fármaco o una muestra que contenga una concentración de fármaco menor que el valor de corte generará una línea en la región de la línea de prueba. Para que sirva como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

## Reactivos

- COC:** La prueba contiene partículas acopladas de anticuerpos monoclonales anti-cocaína de ratón y conjugado de proteína-cocaína. Se emplea un anticuerpo de ratón en el sistema de línea de control.
- AMP:** La prueba contiene partículas acopladas de anticuerpos monoclonales anti-anfetamina de ratón y conjugado de proteína-anfetamina. Se emplea un anticuerpo de ratón en el sistema de línea de control.
- TCH:** La prueba contiene partículas acopladas de anticuerpos monoclonales anti-marihuana de ratón y conjugado de proteína-marihuana. Se emplea un anticuerpo de ratón en el sistema de línea de control.

## Precauciones

- Para uso profesional de diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- No comer, tomar o fumar en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- No utilice las pruebas si el empaque está dañado.
- Maneje todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Tomar en cuenta las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos en toda prueba y siga los procedimientos estándar para la adecuada eliminación de las muestras.
- Las pruebas utilizadas deben ser desechadas de acuerdo con las normativas.
- La humedad y la temperatura puede afectar negativamente a los resultados.

## Almacenamiento y estabilidad

- Almacenar las pruebas en la bolsa sellada, a temperatura ambiente o refrigerada (2-30°C). Las pruebas son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.
- No congelar.

## Recolección y preparación de la muestra

Los cartuchos incluidos pueden utilizarse con sangre, suero o plasma humano.

Las pruebas pueden ser usadas en muestras tomadas por punción digital y venopunción.

Para recolectar muestras de sangre por punción capilar:

- Lave la mano del paciente con agua tibia y jabón. Permita que se seque.
- Masaje la mano sin tocar el sitio de la punción frotando la mano hacia la yema del dedo anular o medio.
- Perforar la piel con una lanceta estéril. Limpie la primera señal de sangre.
- Frote suavemente la mano desde la muñeca hasta la palma de los dedos para formar una gota de sangre sobre el sitio de punción.
- Agregue la muestra de sangre total por punción digital a la prueba utilizando un gotero. Evite las burbujas de aire. Tome **40 µL o una gota de muestra**.
- Apriete el bulbo para dispensar la sangre completa en el área de la muestra del cartucho de prueba.

Las pruebas deben realizarse inmediatamente después de que se hayan recolectado las muestras. No deje las muestras a temperatura ambiente durante períodos prolongados. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C.

La sangre completa / suero / plasma recolectado por venopunción debe almacenarse a 2-8 ° C si la prueba se va a realizar dentro de los 2 días posteriores a la recolección. No congele muestras de sangre, suero o plasma. La sangre total / suero / plasma recolectado por punción digital debe analizarse inmediatamente.

Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba. Las muestras congeladas deben descongelarse completamente y mezclarse bien antes de la prueba. Las muestras no deben congelarse y descongelarse repetidamente. Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

## Materiales

### Materiales suministrados

- Tres cartuchos de prueba: COC, AMP, THC
- Gotero
- Buffer
- Manual de instrucciones

### Materiales requeridos, pero no suministrados

- Lanceta (punción capilar)
- Almohadilla con alcohol
- Temporizador

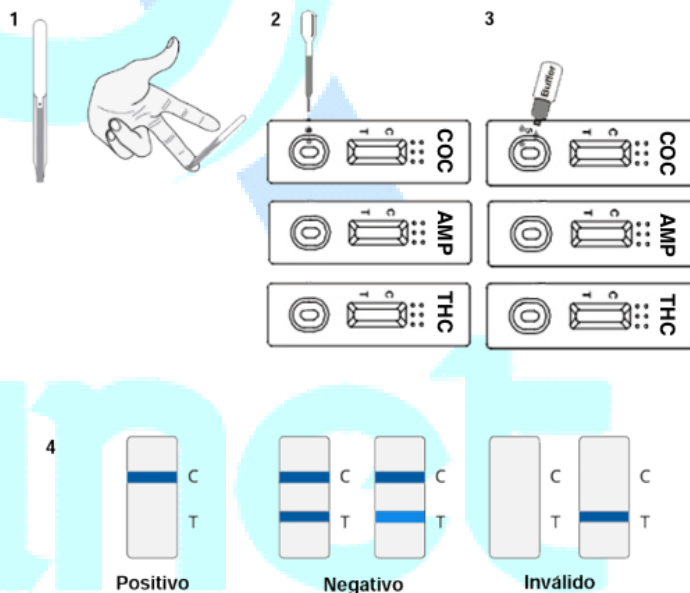
### Materiales opcionales

- Centrífuga
- tubo Vacutainer para toma de muestra por venopunción

## Instrucciones de uso

Llevar los cartuchos, muestras, buffer a temperatura ambiente (15- 30 °C) antes de su uso

- Prepare los cartuchos para cada una de las determinaciones.
- Recolecte 1 gota de muestra (sangre, suero o plasma) con el gotero.
- Coloque la muestra (sangre, suero o plasma) en el primer cartucho, en la zona de muestra.
- Agregue 1 gota de buffer.
- Repita la recolección de la toma de muestra, presionando la yema del dedo, tomando una gota de sangre con el gotero y agregando al siguiente cartucho.
- Agregue 1 gota de buffer.
- Repita el paso 5 y 6 con el último cartucho.
- Interprete los resultados, espere a que aparezca(n) la(s) línea(s) de color.
- Lea los resultados, se pueden interpretar a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.



## Interpretación de los resultados

(Consulte la ilustración anterior)

**NEGATIVO: \* Aparecen dos líneas.** Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (T). Este resultado negativo indica que la concentración de cocaína, anfetamina o marihuana está por debajo del nivel de corte detectable.

**\* NOTA:** El tono de color en la región de la línea de prueba (T) puede variar, pero debe considerarse negativo siempre que haya incluso una línea de color tenue.

**POSITIVO:** Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T). Este resultado positivo indica que la concentración de cocaína, anfetamina o marihuana excede el nivel de corte.

**INVÁLIDO:** La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

## Control de calidad

Un control interno está incluido en la prueba. Una línea roja que aparece en la región de control (C) es el control interno del procedimiento. Confirma que hubo suficiente cantidad de muestra y el procedimiento fue correcto. No se suministran controles con la prueba, sin embargo, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio.

## Limitaciones

- Los cartuchos incluidos en el Kit de pruebas rápidas de antidoping solo proporcionan un resultado analítico preliminar cualitativo. Se debe utilizar un método analítico secundario para obtener un resultado confirmado. La cromatografía de gases / espectrometría de masas (GC/MS) es el método de confirmación preferido.
- Es posible que los errores técnicos o de procedimiento, así como otras sustancias que interfieren en la sangre completa o en la muestra de suero o plasma puedan causar resultados erróneos.
- Un resultado positivo indica la presencia del fármaco o sus metabolitos, pero no indica el nivel de intoxicación, vía de administración o concentración en sangre total, suero o plasma.
- Un resultado negativo no necesariamente indica sangre completa / suero / plasma libre de fármaco. Se pueden obtener resultados negativos cuando el fármaco está presente, pero por debajo del nivel de corte de la prueba.
- La prueba no distingue entre drogas de abuso y ciertos medicamentos.

## Valores esperados

- COC:** El resultado negativo indica que la concentración de cocaína está por debajo del nivel detectable de 50 ng/mL. Un resultado positivo significa que la concentración de cocaína está por encima del nivel de 50 ng/mL. El cartucho de prueba rápida COC tiene una sensibilidad de 50 ng/mL.
- AMP:** El resultado negativo indica que la concentración de anfetamina está por debajo del nivel detectable de 80 ng/mL. Un resultado positivo significa que la concentración de anfetamina está por encima del nivel de 80 ng/mL. El cartucho de prueba rápida AMP tiene una sensibilidad de 80 ng/mL.
- THC:** El resultado negativo indica que la concentración de marihuana está por debajo del nivel detectable de 35 ng/mL. Un resultado positivo significa que la concentración de marihuana está por encima del nivel de 35 ng/mL. El cartucho de prueba rápida de THC tiene una sensibilidad de 35 ng/mL.

## Características de presentación

### Exactitud

Se realizó una comparación utilizando el cartucho de prueba rápida COC y GC/MS en el corte de 50 ng/ml; el cartucho de prueba rápida AMP y GC/MS en el corte de 80 ng/ml y el cartucho de prueba rápida de THC y GC/MS en el corte de 35 ng/mL. Las pruebas se realizaron con 90 muestras clínicas recolectadas previamente de sujetos presentes para pruebas de detección de drogas. Se obtuvieron los siguientes resultados:

### Resultado clínico para sangre completa, suero o plasma

Método		GC/MS		Resultados totales
PRUEBA	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
Prueba rápida COC	Positivo (+)	25	1	26
	Negativo (-)	1	63	64
<b>Resultados totales</b>		26	64	90
<b>%Concordancia</b>		96.2%	98.4%	97.8%
Método		GC/MS		Resultados totales
PRUEBA	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
Prueba rápida AMP	Positivo (+)	20	1	21
	Negativo (-)	1	68	69
<b>Resultados totales</b>		21	69	90
<b>%Concordancia</b>		95.2%	98.6%	97.8%
Método		GC/MS		Resultados totales
PRUEBA	RESULTADO	Positivo (+)	Negativo (-)	
Prueba rápida THC	Positivo (+)	24	1	25
	Negativo (-)	2	63	65
<b>Resultados totales</b>		26	64	90
<b>%Concordancia</b>		92.3%	98.4%	96.7%

### Sensibilidad analítica

Se añadió cocaína, anfetamina y marihuana por separado a una mezcla de sangre completa/suero/plasma libre de drogas a las siguientes concentraciones de  $\pm$  50% de corte y 3x de corte, los datos se resumen a continuación:

	Concentración	Porcentaje de corte	n	Resultado Visual	
				Negativo	Positivo
COC	0	0	30	30	0
	25	-50%	30	30	1
	50	Corte	30	13	17
	75	+50%	30	0	30
	150	3X	30	0	30
AMP	0	0	30	30	0
	40	-50%	30	30	0
	80	Corte	30	15	15
	120	+50%	30	0	30
	240	3X	30	0	30
THC	0	0	30	30	0
	17.5	-50%	30	30	0
	35	Corte	30	15	15
	52.5	+50%	30	0	30
	105	3X	30	0	30

### Especificidad analítica

La siguiente tabla enumera los compuestos que se detectan positivamente en sangre completa/suero/plasma por los cartuchos de prueba rápida de COC, AMP y THC a los 5 minutos.

	Compuesto	Concentración (ng/ml)
COC	Benzolecgonina	50
	Cocaetilo	5,000
	HCl de cocaína	60
	Ecgonina	7,500
AMP	D, L-sulfato de anfetamina	20
	L-anfetamina	3,000
	(±) 3,4-Metilendioxi-anfetamina	40
	Fentermina	150
	Maprotilina	6,000
	Metoxifenamina	1,500
THC	D-Amphetamine	80
	Cannabinol	25,000
	11-nor- $\Delta$ 8-THC-9 COOH	25
	11-nor- $\Delta$ 9-THC-9 COOH	35
	$\Delta$ 8-THC	12,000
$\Delta$ 9-THC	12,000	

## Precisión

Operadores no capacitados realizaron un estudio en tres hospitales utilizando tres lotes diferentes de producto para demostrar la precisión del operador dentro de la ejecución. Un panel idéntico de muestras codificadas, que no contienen cocaína, y 50% de cocaína por encima y por debajo del límite de 50 ng/mL, un panel idéntico de muestras codificadas, que no contienen anfetamina y 50% de anfetamina por encima y por debajo del límite de 80ng/mL y un panel idéntico de muestras codificadas, que no contienen marihuana y 50% por encima y por debajo del límite de 35 ng/mL fueron entregados a cada sitio. Se tabularon los siguientes resultados:

	Concentración	n por sitio	Sitio A		Sitio B		Sitio C	
			-	+	-	+	-	+
COC	0	10	10	0	10	0	10	0
	25	10	8	2	9	1	9	1
	75	10	1	9	1	9	2	8
AMP	0	10	10	0	10	0	10	0
	40	10	8	2	9	1	9	1
	120	10	1	9	1	9	2	8
THC	0	10	10	0	10	0	10	0
	17.5	10	8	2	9	1	9	1
	52.5	10	1	9	1	9	2	8

## Reactividad cruzada

Se realizó un estudio para determinar la reactividad cruzada de la prueba con compuestos en sangre completa / suero / plasma tanto negativa como positiva a COC, AMP y THC. Los compuestos a continuación no muestran reactividad cruzada cuando se prueban con los cartuchos incluidos en el kit de pruebas rápidas antidoping a una concentración de 100 µg/mL.

4-acetamidofenol	Creatinina	Ketoprofeno	Procaina
Acetofenotidina	Desoxicorticosterona	labetalol	Promazine
N-acetilprocainamida	Dextrometorfano	levorfanol	Prometazina
Ácido acetilsalicílico	Diazepam	loperamida	D, l-proprianolol
Aminopirina	Diclofenaco	Maprotilina	D-propoxifeno
Amitriptilina	Diflunisal	Meperidina	D-pseudoefedrina
Amobarbital	Digoxina	Mepramato	Quinidina
Amoxicilina	Difenhidramina	Metadona	Quinina
Ampicilina	Doxilamina	D-metanfetamina	Ranitidina
ácido l-ascórbico	Clorhidrato de ecgonina	l-metanfetamina	Ácido salicílico
Apomorfina	Éster metílico de ecgonina (R, 2S) - (-) - Efedrina	Metilfenamina	Secobarbital
Aspartamo	-Efedrina	3,4-metilendioxi-etil anfetamina	Serotonina
Atropina	(-) - $\psi$ -efedrina	(±) 3,4-Metilendioxi-metanfetamina	(5-hidroxitiramina) Sulfametazina
Ácido benzoico	Eritromicina	Metilfenidato	Sulindac
Ácido benzoico	b-estradíol	Morfina-3-b-D-glucuronido	Temazepam
Benzolecgonina	Estrona-3-sulfato	P-aminobenzoato de etilo	Tetraciclina
Benzfetamina	Fenfluramina	Ácido nalidixico	Tetrahidrocortisona, 3-acetato
Bilirubina	Cafeína	Naloxona	Tetrahidrocortisona 3- (b-Dglucuronido)
(±) -bromfeniramina	Cannabidiol	Ácido oxalínico	Tetrahydrozolina
Fenpropofeno	Cannabinal	Ácido gentísico	Tebaina
Furosemida	Cloralhidrato	Hemoglobina	Tiamina
Ácido gentísico	Cloranfenicol	Hidralazina	Trifluoperazina
Hemoglobina	Clordiazepóxido	Hidroclorotiazida	Trimetoprima
Hidralazina	Clorotiazida	Hidrocortisona	Trimipramina
Papaverina	(±) Clorfeniramina	p-hidroxi-anfetamina	D, l-triptófano
Penicilina-G	Clorpromazina	Ácido O-hidroxihipúrico	Tiramina
Pentazocina	Cloroquina	p-hidroximetanfetamina	D, l-tirosina
Pentobarbital	Colesterol	3-hidroxitiramina	Ácido úrico
Perfenazina	Clonidina	lupropreno	Verapamilo
Fenciclidina	Clorhidrato de cocaína	Imipramina	Zomepirac
Fenelzina	Codeína	(±) -isoproterenol	Procaina
Trimetoprima	Cortisona	Isoxuprina	
Trimipramina	(-) Cotinina	Ketamina	
D, l-triptófano	4-acetamidofenol	Creatinina	
Tiramina			
D, l-tirosina			
Ácido úrico			
Verapamilo			
Zomepirac			
Procaina			

## Sustancias interferentes

El kit de prueba rápida de COC, AMP y THC (sangre completa / suero / plasma) ha sido probado para detectar posibles interferencias a partir de muestras visiblemente hemolizadas y lipémicas. Además, no se observó interferencia en las muestras, conteniendo hasta 100 mg/dL de hemoglobina, hasta 100 mg/dL de bilirrubina; y hasta 200 mg/dL de albúmina de suero humano.

## Referencias

- Stewart DJ, Inaba T, Lucassen M, Kalow W. Clin. Pharmacol. Ther. April 1979; 25 ed: 464, 264-8.
- Ambre J. J. Anal. Toxicol.1985; 9:241.
- Tietz NW. Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders Company. 1986; 1735
3. Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man.2nd Ed. Biomedical Publ., Davis, CA. 1982; 488

## Índice de símbolos

	Atención, ver instrucciones de uso		Pruebas por equipo
	Solo para uso de diagnóstico in vitro		Caducidad
	Almacenar entre 2-30°C		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar