SPINREACT

CE

AMP Urine

Amphetamines urine

DoA Liquid Test

Amphetamines Assay for Urine
IVD

Store at 2 - 8ºC.

INTENDED USE

The Amphetamines Enzyme Immunoassay (EIA) is a homogenous enzyme immunoassay system intended for use in the qualitative and semi-quantitative analysis of amphetamines in human urine.

The assay provides only a preliminary analytical result. A more specific alternative chemical method must be used in order to obtain a confirmed analytical result. Gas Chromatography/mass spectrometry (GC/MS) is the preferred confirmatory method (1, 2). Clinical consideration and professional judgement should be exercised to any result, in order to establish the appropriate treatment or therapy.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The amphetamines immunoassay is a homogeneous enzyme immunoassay (7) with ready-to-use liquid reagent. The assay is based on competition between drug in the sample and drug labelled with the enzyme glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) for a fixed amount of antibody in the reagent. Enzyme activity decreases upon binding to the antibody, and the drug concentration in the sample is measured in terms of enzyme activity.

In the absence of drug in the sample, amphetamines-labelled G6PDH conjugate is bound to antibody, and the enzyme activity is inhibited. On the other hand, when free drug is present in the sample, antibody would bind to free drug; the unbound amphetamines-labelled G6PDH then exhibits its maximal enzyme activity.

Active enzyme converts nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) to NADH, resulting in an absorbance change that can be measured spectrophotometrically at 340 nm.

SIGNIFICANCE OF THE TEST

Amphetamines are a class of phenethylamine drugs that have sympathomimetic activity, which imitate the stimulating actions of the endogenous neurotransmitter (3). The ability of amphetamines to alleviate fatigue, improve mental and physical performances, elevate mood, and produce euphoria had led to the abuse of these legitimate drugs. Amphetamines are psychologically and physiologically addicting. Chronic, high dose abuse can lead to a psychosis condition indistinguishable to acute schizophrenia (4).

The most common amphetamines include *d*-amphetamine, *d*-methamphetamine, and *d,l*-amphetamine (5). Due to its ease of manufacture and ready availability, methamphetamine is the most abused of the amphetamines. Analogues of methamphetamine and amphetamine such as methylenedioxymethamphetamine (MDMA; Ecstasy) and 3,4-methylendioxyamphetamine (MDA) have recently become popular at "rave parties" in both the United States and Europe (3, 6).

Amphetamines can be taken orally, intravenously, or by smoking or snorting. They are rapidly absorbed from the gastrointestinal tract, and then either metabolized in the liver or excreted in urine unchanged (3, 4). The presence of amphetamines may be detectable in urine for 3-4 days after administration.

REAGENTS

Antibody/Substrate Reagent (R_1): Contains two mouse monoclonal antibodies to amphetamines, glucose-6-phosphate (G6P), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), stabilizers, and sodium azide as preservative.

Enzyme-drug Conjugate Reagent (R_2): Contains amphetamines-labelled glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH) in buffer with sodium azide as preservative.

Avoid prolonged exposures of the reagent at temperatures higher than 25°C.

CALIBRATORS AND CONTROLS

Negative Human Urine (Level 0): Contains negative human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 933010 and 933015).

Multidrug Calibrator Urine (Ref.: 933020).

Multidrug Calibrator Level 0: Contains human urine with sodium azide as preservative.

Multidrug Calibrator Level 1: Contains 300 ng/mL methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative.

Multidrug Calibrator Level 2: Contains 500 ng/mL methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative.

Multidrug Calibrator Level 3: Contains 1000 ng/mL methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative.

Multidrug Calibrator Level 4: Contains 2000 ng/mL methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative.

Multidrug Calibrator Low Cut-Off: Contains 300 ng/mL Methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 932910).

Multidrug Calibrator High Cut-Off: Contains 1000 ng/mL Methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 932915).

Multidrug Control Low Cut-Off: Contains 225 and 375 ng/mL Methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 935910).

Multidrug Control High Cut-Off: Contains 750 and 1250 ng/mL Methamphetamine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 935915).

PREPARATION

The reagents are ready to use. No reagent preparation is required. All assay components should be stored refrigerated at 2-8ºC when not in use.

SPIN640 APPLICATION

TEST INFORMATION		REAGENT VOLUME	
Nº	**	Vol. R1	160
Test	DoA	Vol. R2	60
Full Name	DoA (User defined)	Vol. R3	
Standard nº	User defined	Vol. R4	
SAMPLE VOLUME		**RESULT SETUP**	
Vol. Sample Stand.	16	Decimal 1	Slope 1
Vol. Sample Increas.		Unit User defined	Inter. 0
Vol. Sample Dec			
REACTION PARAMETERS			
Reac. Type	Fixed Time	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	0-0
Sec. Wave.		React. Time	56-70
JUDGEMENT CRITERIA			
Absorbance	-30000/30000	Lin. Range	User defined
Incre.Test		Lin. Limit	
Decre.Test		Subs. Limit	
Prozone (Rate-Antigen)		Q1	
PC		Q2	
ABS		Q3	
		Q4	

CALIBRATOR

CALIBRATION TYPE: Spline or Linear two points (User defined)

*This parameter calibration is stable for **30 days.***

WARNING AND PRECAUTIONS

- This test is for in vitro diagnostic use only. Harmful if swallowed.
- Reagents used in the assay contain sodium azide that may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azide. When disposing such reagents or wastes always flush with a large volume of water to prevent azide build-up.
- Do not use the reagents beyond their expiration dates.
- Keep all containers closed when not in use to avoid microbial contamination.
- Do not mix reagents from different manufacturers.
- Do not freeze reagents.

SPECIMEN COLLECTION

Urine samples may be collected in plastic or glass containers. Some plastics may adsorb drugs. Use a fresh urine specimen for the test. If the sample can not be analyzed immediately, it may be stored refrigerated for up to 3 days. For longer storage keep the sample frozen and then thaw before use. Samples should be bought to room temperature of 18-25ºC for testing. Samples with high turbidity should be centrifuged before analysis. Urine samples within the normal pH range of 5-8 can be tested without any pre-treatment. Fresh and properly stored urine samples generally are

SPINREACT,S.A./S.A.U. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99 E-mail: spinreact@spinreact.com
A Concateno Group Company: www.concateno.com

within this range. Samples with pH out of the range should be adjusted to be within this range with 1M HCl or 1M NaOH before testing.
Adulteration may cause erroneous results. If sample adulteration is suspected, obtain a new sample and both samples should be forwarded to the laboratory for testing.
Handle all urine specimens as if they are potentially infectious.

INSTRUMENTATION REQUIRED
- Spin640 autoanalizer
- Laboratory equipment.

CALIBRATION
For qualitative determinations, the reagent must be calibrated with the selected cut-off calibrator. For semi-quantitative determinations, the reagent can be calibrated with a calibration curve, according to the following table.

Calibrator levels (ng/mL)		Control levels (ng/mL)
QUALITATIVE	**SEMI-QUANTITATIVE**	
Low cut-off (300)	Level 0 (0) Level 1 (300) Level 2 (500) Level 3 (1000) Level 4 (2000)	Control - 25% (225) Control + 25% (375)
High cut-off (1000)		Control - 25% (750) Control + 25% (1250)

INTERPRETATION
For qualitative determinations, the cut-off calibrator (300, 500 or 1000ng/mL) of amphetamine is used as a reference for distinguishing positive from negative samples. A sample with a change in absorbance (ΔmA/min) equal to, or greater than, that obtained with the cut-off calibrator is considered positive. A sample with a change in absorbance value lower than that obtained with the cut-off calibrator is considered negative.
For semi-quantitative determinations, a calibration curve with multiple calibrators is required. The concentration of amphetamines in the sample may then be estimated from the calibration curve.

QUALITY CONTROL
Good laboratory practices recommend the use of control specimens to ensure proper assay performance.
The calibration curve can be validated with the Control levels 225 and 375 ng/mL (ref. 935910) or levels 750 and 1250 ng/mL (ref. 935915), or with commercial controls.

LIMITATIONS
1. A positive result from the assay indicates only the presence of amphetamines.
2. Refer to the intended use statement for details of recommended confirmation testing methods.
3. The test is designed for use with human urine only.

BIBLIOGRAPHY
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. Contemporary Practice in Clinical Toxicology, Leslie M. Shaw, editor-in-chief. AACC (2000)
4. Julien, R.M. A primer of Drug Action. 6th ed. New York, N.Y. WH Freeman & Co. 1992
5. Cox, T.C., et al, Drugs and Drug Abuse, Addiction Research Foundation, pp. 153-156, 1983.
6. Leshner, A.L. Club Drugs, Community Drug Alert Bulletin, www.clubdrugs.org. NIDA's Community Epidermiology Work Group. 2001.
7. Rubenstein, K.E., R.S. Schneider, and E.F. Ullman, Homogeneous Enzyme Immunoassay: A New Immunochemical Technique, Biochem Biophys Res Commun, 47, 846 (1972)

PACKAGING

Ref.: MD930008	Cont.	R1: 2 x 40 mL R2: 2 x 15 mL

SPINREACT,S.A./S.A.U. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99 E-mail: spinreact@spinreact.com
A Concateno Group Company: www.concateno.com

Anfetaminas Orina

DoA Liquid Test

Ensayo de Anfetaminas para Orina
IVD

Conservar a 2 - 8ºC.

USO RECOMENDADO

Inmunoensayo enzimático homogéneo para la determinación cualitativa y cuantitativa de anfetaminas en orina humana.
El ensayo solamente proporciona un resultado analítico preliminar. Para confirmar el resultado analítico debe usarse un método químico alternativo más específico. El uso de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS) es el método para confirmar los resultados más utilizado (1, 2). Existen además otros métodos químicos de confirmación. Se deben tener en cuenta las consideraciones clínicas y el criterio profesional en la interpretación de los resultados obtenidos con vistas a establecer un tratamiento o terapia adecuado.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El Inmunoensayo Enzimático de Anfetaminas es un ensayo homogéneo (7) con reactivo líquido listo para su uso. El ensayo se basa en la competición entre la droga presente en la muestra y la droga conjugada con la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenada (G6PDH) por una cantidad fija del anticuerpo en el reactivo. La actividad enzimática decrece cuando hay unión con el anticuerpo, y la concentración de la droga en la muestra es medida en términos de actividad enzimática.
En ausencia de droga en la muestra, la enzima G6PDH conjugada con la droga se une al anticuerpo, de manera que la actividad enzimática es inhibida. Por otro lado, cuando la droga está presente en la muestra, el anticuerpo se une a la droga libre, de manera que la enzima libre de unión G6PDH muestra su actividad máxima.
La actividad enzimática convierte nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) a NADH, resultando en un cambio de absorbancia que puede ser medido espetrométricamente a 340 nm.

SIGNIFICADO DEL TEST

Las anfetaminas son una clase de drogas de fenetilamina que tienen actividad simpaticomimética imitando las acciones estimulantes del neurotransmisor endógeno (3). La capacidad de las anfetaminas de aliviar la fatiga, de aumentar el rendimiento físico y mental, de mejorar el estado anímico, y de producir euforia había conducido al abuso de estas drogas legítimas. Las anfetaminas son adictivas tanto psicológica como fisiológicamente. Un abuso crónico de una dosis elevada puede conducir a una condición de psicosis indistinguible de la esquizofrenia aguda (4). Las anfetaminas más comunes incluyen la d-anfetamina, la d-metanfetamina, y la d,l-anfetamina (5). La metanfetamina es la anfetamina de la que más se abusa, debido a su fácil fabricación y disponibilidad. Análogos de la metanfetamina y de la anfetamina tales como la metilendioximetanfetamina (MDMA; Éxtasis) y la 3,4-metilendioxianfetamina (MDA) han llegado a ser recientemente populares en "fiestas rave" tanto en Estados Unidos como en Europa (3, 6).
Las anfetaminas se pueden tomar de forma oral, intravenosa, o pueden ser fumadas o esnifadas. Se absorben rápidamente en el aparato gastrointestinal, y después se metabolizan en el hígado o se excretan intactas en orina (3, 4). La presencia de anfetaminas puede ser detectable en la orina durante 3-4 días después de su administración.

REACTIVOS

Reactivo Anticuerpo/Sustrato (R_1): Contiene dos anticuerpos de ratón monoclonales para anfetaminas, glucosa-6-fosfato (G6P), y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), estabilizadores, y azida sódica como conservante.
Reactivo Conjugado enzima-droga (R_2): Contiene glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) conjugada con anfetamina en tampón con azida sódica como conservante.
Evitar exposiciones prolongadas del reactivo a temperaturas superiores a 25°C.

CALIBRADORES Y CONTROLES

Orina Humana Negativa (Nivel 0): Contiene orina negativa humana con azida sódica como conservante (Ref.:933010 y 933015).

Calibrador Multidroga (Ref.:933020):

Calibrador Nivel 0 Multidroga: Contiene orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 1 Multidroga: Contiene 300 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 2 Multidroga: Contiene 500 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 3 Multidroga: Contiene 1000 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 4 Multidroga: Contiene 2000 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Multidroga *Cut-off* Bajo: Contiene 300 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 932910).
Calibrador Multidroga *Cut-off* Alto: Contiene 1000 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 932915).

Control Multidroga *Cut-off* Bajo: Contiene 225 y 375 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 935910).
Control Multidroga *Cut-off* Alto: Contiene 750 y 1250 ng/mL metanfetamina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 935915).

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso. No se requiere preparación del reactivo.
Todos los componentes del ensayo deben conservarse refrigerados a 2-8ºC.

APLICACIÓN AL SPIN640

TEST INFORMATION		**REAGENT VOLUME**	
Nº	**	Vol. R1	160
Test	DoA	Vol. R2	60
Full Name	DoA (User defined)	Vol. R3	
Standard nº	User defined	Vol. R4	
SAMPLE VOLUME		**RESULT SETUP**	
Vol. Sample Stand.	16	Decimal 1	Slope 1
Vol. Sample Increas.		Unit User defined	Inter. 0
Vol. Sample Dec			
REACTION PARAMETERS			
Reac. Type	Fixed Time	Direction	Increase
Pri. Wave.	340	Reagent Blank	0-0
Sec. Wave.		React. Time	56-70
JUDGEMENT CRITERIA			
Absorbance	-30000/30000	Lin. Range	User defined
Incre.Test		Lin. Limit	
Decre.Test		Subs. Limit	
Prozone (Rate-Antigen)		Q1	
PC		Q2	
ABS		Q3	
		Q4	

CALIBRATOR
CALIBRATION TYPE: Spline or Linear two points (User defined)

*La Calibración de este parámetro es estable hasta **30 días.***

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Este test es para diagnóstico in vitro. Nocivo por ingestión.
- La azida sódica puede reaccionar con el cobre o plomo de las tuberías y formar componentes explosivos. En caso de eliminación del producto, hacerlo con abundante agua del grifo.
- No utilizar los reactivos más allá de su fecha de caducidad.
- Mantener todas las botellas cerradas cuando no están en uso para evitar contaminación microbiana.
- No mezclar reactivos de distintos fabricantes.
- No congelar los reactivos.

MUESTRAS

Las muestras de orina se pueden obtener en contenedores de plástico o de vidrio. Algunos plásticos pueden absorber drogas. Utilizar orina reciente para el test. Si la muestra no se puede analizar inmediatamente, se puede guardar refrigerada hasta tres días. Se debe congelar la muestra si se desea guardar durante más días, y descongelar antes de su uso. Las muestras deben estar a temperatura ambiente (18-25ºC) durante el test. Muestras con alta turbidez deben ser centrifugadas antes de su análisis. Las muestras de orina con un pH dentro del rango normal de 5-8 pueden ser utilizadas sin necesidad de pre-tratamiento. Las muestras recientes y

SPINREACT,S.A./S.A.U. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99 E-mail: spinreact@spinreact.com
A Concateno Group Company: www.concateno.com

conservadas adecuadamente están generalmente dentro de este rango. Las muestras con el pH fuera del rango deben ser ajustadas dentro del mismo, utilizando 1M HCl o 1M NaOH antes de utilizarlas.
La adulteración puede causar resultados erróneos. Si se sospecha de adulteración de la muestra, se debe obtener una muestra nueva y ambas muestras deben ser ensayadas.
Manipular todas las muestras de orina como si fueran potencialmente infecciosas.

MATERIAL ADICIONAL
- Autoanalizador Spin640
- Equipamiento habitual de laboratorio.

CALIBRACIÓN
Para determinaciones cualitativas, el reactivo tiene que ser calibrado con el calibrador del punto de corte deseado. Para determinaciones semi-cuantitativas, el reactivo debe ser calibrado con los puntos de calibración indicados a continuación.

Niveles Calibrador (ng/mL)		Niveles Control (ng/mL)
CUALITATIVO	**SEMI-CUANTITATIVO**	
Cut-off bajo (300)	Nivel 0 (0) Nivel 1 (300) Nivel 2 (500) Nivel 3 (1000) Nivel 4 (2000)	Control - 25% (225) Control + 25% (375)
Cut-off alto (1000)		Control - 25% (750) Control + 25% (1250)

INTERPRETACIÓN
Para determinaciones cualitativas, los calibradores de punto de corte (300,500 o 1000 ng/ml) de anfetamina se utilizan como referencia para distinguir muestras positivas y negativas. Una muestra con un incremento de absorbancia (ΔmA/min) igual o mayor que el punto de corte utilizado es considerada positiva. Una muestra con un incremento de absorbancia (ΔmA/min) menor que el punto de corte utilizado es considerada negativa.
Para determinaciones semi-cuantitativas, se requiere una curva de calibración multi-punto. La concentración de anfetaminas en la muestra puede ser estimada en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD
Las buenas prácticas en laboratorio recomiendan el uso de controles para asegurar el correcto funcionamiento del ensayo.
La curva de calibración puede ser validada con los controles Multidroga de niveles 225 y 375 ng/mL (Ref.:935910) y niveles 750 y 1250 ng/mL (Ref.: 935915), o bien con Controles comerciales.

LIMITACIONES
1. Un resultado positivo del ensayo sólo indica presencia de anfetaminas.
2. Consultar el "Uso Recomendado" para obtener detalles acerca de los métodos de confirmación recomendados.
3. El reactivo está diseñado para ser utilizado solamente en orina humana.

BIBLIOGRAFÍA
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. Contemporary Practice in Clinical Toxicology, Leslie M. Shaw, editor-in-chief. AACC (2000)
4. Julien, R.M. A primer of Drug Action. 6th ed. New York, N.Y. WH Freeman & Co. 1992
5. Cox, T.C., et al, Drugs and Drug Abuse, Addiction Research Foundation, pp. 153-156, 1983.
6. Leshner, A.L. Club Drugs, Community Drug Alert Bulletin, www.clubdrugs.org. NIDA's Community Epidermiology Work Group. 2001.
7. Rubenstein, K.E., R.S. Schneider, and E.F. Ullman, Homogeneous Enzyme Immunoassay: A New Immunochemical Technique, Biochem Biophys Res Commun, 47, 846 (1972)

PRESENTACIÓN

Ref.: MD930008	Cont.	R1: 2 x 40 mL R2: 2 x 15 mL

SPINREACT,S.A./S.A.U. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 08 00 Fax +34 972 69 00 99 E-mail: spinreact@spinreact.com
A Concateno Group Company: www.concateno.com