SPINREACT

CE

COC Urine

Cocaine Metabolite Urine

DoA Liquid Test

Cocaine Metabolite Assay for Urine
IVD

Store at 2 - 8ºC.

INTENDED USE

The Cocaine Metabolite Enzyme Immunoassay (EIA) is a homogeneous enzyme immunoassay system intended for use in the qualitative and semi-quantitative analysis of Benzoylecgonine (cocaine metabolite) 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 benzoylecgonine immunoassay is a homogeneous enzyme immunoassay (8) 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, benzoylecgonine-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 benzoylecgonine-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

Cocaine (methylbenzoylecgonine) is an alkaloid found in the plant *Erythroxylon coca*, which is principally grown in South America. It is chemically, but not pharmacologically, related to atropine.
Cocaine is a CNS stimulant; however, it also exhibits numerous undesirable side effects including cardiac toxicity and behaviour responses such as paranoia and hallucinations. The most important action of cocaine clinically is its ability to block nerve conductance upon local application (3).
Cocaine sold on the street includes the hydrochloride salt and crack cocaine. The salt is frequently abused by inhalation or intravenous injection. Crack is a free base form of cocaine that produces a characteristic cracking sound when smoked.
Cocaine is rapidly metabolized, with less than 5% excreted unchanged in urine. The major metabolite is benzoylecgonine. Other notable metabolites are methylecgonine and ecgonine. Cocaine metabolites are detectable in urine for 1-3 days after moderate use (4, 5). However, for long term, heavy use, the metabolites may be found in urine for up to 3 weeks (6, 7). Cocaine readily passes through the placenta into the foetus. Cocaine abuse during pregnancy can adversely affect the foetal development and cause serious problems in the neonate (5).

REAGENTS

Antibody/Substrate Reagent (R_1): Contains mouse monoclonal antibodies to benzoylecgonine, glucose-6-phosphate (G6P), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), stabilizers, and sodium azide as preservative.
Enzyme-drug Conjugate Reagent (R_2): Contains benzoylecgonine-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 negative human urine with sodium azide as preservative.
Multidrug Calibrator Level 1: Contains 150 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative.
Multidrug Calibrator Level 2: Contains 300 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative.
Multidrug Calibrator Level 3: Contains 500 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative.
Multidrug Calibrator Level 4: Contains 1000 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative.

Multidrug Calibrator Low Cut-Off: Contains 150 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 932910).
Multidrug Calibrator High Cut-Off: Contains 300 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 932915).

Multidrug Control Low Cut-Off: Contains 112,5 and 187,5 ng/mL benzoylecgonine in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 935910).
Multidrug Control High Cut-Off: Contains 225 and 375 ng/mL benzoylecgonine 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 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 18-25°C 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

Cocaine Metabolite Urine

DoA Liquid Test

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 5 point calibration curve.

Calibrator levels (ng/mL)		Control levels (ng/mL)
QUALITATIVE	**SEMI-QUANTITATIVE**	
Low cut-off (150)	Level 0 (0) Level 1 (150) Level 2 (300) Level 3 (500) Level 4 (1000)	Control - 25% (112,5) Control + 25% (187,5)
High cut-off (300)		Control - 25% (225) Control + 25% (375)

The reagent should be recalibrated every month, when the controls are out of specifications (see Quality Control information), and when changing the reagent lot or the instrument settings.

INTERPRETATION

For qualitative determinations, the cut-off calibrator (150 or 300ng/mL) of benzoylecgonine 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 the Cocaine metabolite 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 112,5 and 187,5 ng/mL (ref. 935910) or levels 225 and 375 ng/mL (ref. 935915), or with commercial controls.

LIMITATIONS

1. A positive result from the assay indicates only the presence of cocaine metabolite.
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. Goodman, L.S., and A. Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 4th 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, N.L. Clinical Pharmacology and Toxicology of Cocaine, *Pharmacol. & Toxicol.* 72, 3, 1993
6. Weiss, R.D. and F.H. Gawin. Protracted Elimination of Cocaine Metabolites in Long-term, High-dose Cocaine Abusers. *Am. 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)*

PACKAGING

Ref.: MD930038	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

SPINREACT

CE

COC Orina

Metabolito de Cocaína Orina

DoA Liquid Test

Ensayo de Metabolito de Cocaína para Orina
IVD

Conservar a 2 - 8ºC.

USO RECOMENDADO
Inmunoensayo enzimático homogéneo para la determinación cualitativa y cuantitativa de Benzoilecgonina (metabolito de cocaína) 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 Metabolito de Cocaína (Benzoilecgonina) es un ensayo homogéneo (8) 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 espectrométricamente a 340 nm.

SIGNIFICADO DEL TEST
La cocaína (metilbenzoilecgonina) es un alcaloide encontrado en la planta *Erythroxylon coca,* la cual crece principalmente en Suramérica. Está químicamente, pero no farmacológicamente, relacionada con la atropina.
La cocaína es un estimulante del SNC; sin embargo, también produce numerosos efectos secundarios indeseables como toxicidad cardíaca y alteraciones del comportamiento tales como paranoia y alucinaciones. La acción clínica más importante de la cocaína es su capacidad de bloquear la conductancia del nervio tras su aplicación local. (3).
La cocaína vendida en la calle incluye la sal de clorhidrato y la cocaína crack. La sal se suele consumir por inhalación o inyección intravenosa. El crack es una forma libre de cocaína base que produce un crujido característico cuando es fumado. La cocaína se metaboliza rápidamente, excretándose inalterada en orina menos del 5%. El principal metabolito es la benzoilecgonina. Otros metabolitos notables son metilecgonina y ecgonina. Los metabolitos de la cocaína son detectables en la orina durante 1-3 días tras un uso moderado (4, 5). Sin embargo, se pueden encontrar en orina hasta 3 semanas tras un uso elevado, durante un largo periodo de tiempo (6, 7). La cocaína pasa fácilmente al feto a través de la placenta. El abuso de la cocaína durante el embarazo puede afectar adversamente al desarrollo fetal y causar problemas serios en el recién nacido (5).

REACTIVOS
Reactivo Anticuerpo/Sustrato (R_1): Contiene anticuerpo de ratón monoclonal para benzoilecgonina, 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 benzoilecgonina 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 negativa humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 1 Multidroga: Contiene 150 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 2 Multidroga: Contiene 300 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 3 Multidroga: Contiene 500 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante.
Calibrador Nivel 4 Multidroga: Contiene 1000 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Multidroga *Cut-off* Bajo: Contiene 150 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 932910).
Calibrador Multidroga *Cut-off* Alto: Contiene 300 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 932915).

Control Multidroga *Cut-off* Bajo: Contiene 112,5 y 187,5 ng/mL benzoilecgonina en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.: 935910).
Control Multidroga *Cut-off* Alto: Contiene 225 y 375 ng/mL benzoilecgonina 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.

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

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

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 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 5 puntos de calibración indicados a continuación.

Niveles Calibrador (ng/mL)		**Niveles Control (ng/mL)**
CUALITATIVO	**SEMI-CUANTITATIVO**	
Cut-off bajo (150)	Nivel 0 (0) Nivel 1 (150) Nivel 2 (300) Nivel 3 (500) Nivel 4 (1000)	Control - 25% (112,5) Control + 25% (187,5)
Cut-off alto (300)		Control - 25% (225) Control + 25% (375)

El reactivo se debe calibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones (ver Control de Calidad), y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

INTERPRETACIÓN
Para determinaciones cualitativas, los calibradores de punto de corte (150 o 300 ng/ml) de benzoilecgonina 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 del metabolito de cocaína 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 112,5 y 187,5 ng/mL (Ref.:935910) y niveles 225 y 375 ng/mL (Ref.: 935915), o bien con Controles comerciales.

LIMITACIONES
1. Un resultado positivo del ensayo sólo indica presencia del metabolito de cocaína.
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. Goodman, L.S., and A. Gilman. The Pharmacological Basis of Therapeutics, 4th 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, N.L. Clinical Pharmacology and Toxicology of Cocaine, *Pharmacol. & Toxicol.* 72, 3, 1993
6. Weiss, R.D. and F.H. Gawin. Protracted Elimination of Cocaine Metabolites in Long-term, High-dose Cocaine Abusers. *Am. J. Med.*, 85, 879, 1988
7. Burke, W.M. eta 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)*

PRESENTACIÓN

Ref.: MD930038	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