

Ecstasy Assay for Urine IVD

Store at 2 - 8°C.

INTENDED USE

The Ecstasy Enzyme Immunoassay (EIA) is a homogeneous enzyme immunoassay system intended for use in the qualitative and semi-quantitative analysis of MDMA and related compounds 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 ecstasy immunoassay is a homogeneous enzyme immunoassay (4) 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, ecstasy-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 ecstasy-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

Ecstasy drugs are a group of amphetamine derivatives, including MDMA (3,4-methylenedioxyamphetamine), MDA (3,4-methylenedioxyamphetamine), and MDEA (3,4-methylenedioxyethylamphetamine). They are central nervous system (CNS) stimulants. At light dose, ecstasy drugs produce euphoria, increase self-awareness. However, they are popularly abused for their psychotropic effects at high doses and become hallucinogenic and loss control of behaviour.

Toxic overdose causes depression, uncontrolled body fluid excretion, cardiac arrhythmias, and sleep disorder. Since there is no known medical application of ecstasy drugs with high abuse potential, US DEA list both MDMA and MDA as schedule I drugs. After ingestion of the drug, MDMA is known to metabolize to MDA by de-methylation.

Within the human body, most of the drug is eliminated through urinary excretion. Most of the urinary excretion is unchanged MDMA with a small fraction of MDA. Other urinary excretions include mono- and dihydroxy derivatives which appear as glucuronide conjugates (3). Detection of MDMA or its metabolites in urine indicates use of ecstasy.

REAGENTS

Antibody/Substrate Reagent (R₁): Contains mouse monoclonal antibodies to ecstasy, glucose-6-phosphate (G6P), nicotinamide adenine dinucleotide (NAD), stabilizers, and sodium azide as preservative.

Enzyme-drug Conjugate Reagent (R₂): Contains ecstasy-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 o Ref.:933015).

Ecstasy Calibrator for Urine (Ref.: 933030):

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

Ecstasy Calibrator Level 1: Contains 100 ng/mL ecstasy in human urine with sodium azide as preservative.

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

Ecstasy Calibrator Level 3: Contains 750 ng/mL ecstasy in human urine with sodium azide as preservative.

Ecstasy Calibrator Level 4: Contains 1000 ng/mL ecstasy in human urine with sodium azide as preservative.

Ecstasy Calibrator (Cut-off 500 ng/mL): Contains 500 ng/mL ecstasy in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 932935).

Ecstasy Control: Contains 375 and 625 ng/mL ecstasy in human urine with sodium azide as preservative (Ref.: 935935).

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 Inceas.		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 brought 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 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 autoanalyzer
- 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.

Cut-off (ng/mL)	Calibrator levels (ng/mL)		Control levels (ng/mL)
	QUALITATIVE	SEMI- QUANTITATIVE	
500	Cut-off (500)	Level 0 (0) Level 1 (100) Level 2 (500) Level 3 (750) Level 4 (1000)	Control - 25% (375) Control +25% (625)

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 (500ng/mL) of ecstasy is used as a reference for distinguishing positive from negative samples. A sample with a change in absorbance ($\Delta A/min$) 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 ecstasy 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 controls level 375 and 625 ng/mL or with commercial controls.

LIMITATIONS

1. A positive result from the assay indicates only the presence of ecstasy.
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. Baselt RC and Cravey RH. "Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man". Chemical Toxicology Institute, 4th ed. Foster City, CA., 1995
4. 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.: MD930058

Cont.

R1: 2 x 40 mL
R2: 2 x 15 mL

Ensayo de Éxtasis para Orina IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Inmunoensayo enzimático homogéneo para el análisis cualitativo y cuantitativo de MDMA y compuestos relacionados 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 éxtasis es un ensayo homogéneo (4) 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

Las drogas de éxtasis son un grupo de derivados de la anfetamina, incluyendo la MDMA (3,4-metilendioxi metanfetamina), MDA (3,4-metilendioxi anfetamina), y la MDEA (3,4- metilendioxi etil anfetamina). Son estimulantes del sistema nervioso central (SNC). A bajas dosis, las drogas de éxtasi producen euforia e incrementan el estado de alerta. Sin embargo, se abusa popularmente de ellas por sus efectos psicotrópicos a dosis elevadas, convirtiéndose en alucinógenos y provocando pérdida de control del comportamiento.

Una sobredosis tóxica causa depresión, excreción incontrolada del fluido corporal, arritmias cardíacas, y desorden del sueño. Dado que no se conoce aplicación médica alguna de las drogas de éxtasi con un potencial de abuso elevado, la US DEA clasifica tanto la MDMA como la MDA como drogas de clase I. Tras la ingestión de la droga, la MDMA se metaboliza a MDA por un proceso de desmetilación. Dentro del cuerpo humano, la mayor parte de la droga se elimina a través de la excreción urinaria. Mayoritariamente se elimina MDMA inalterada con una pequeña fracción de MDA. Otras excreciones urinarias incluyen los derivados mono y dihidroxi que aparecen como conjugados glucurónidos (3). La detección de MDMA o de sus metabolitos en orina indica el uso de éxtasis.

REACTIVOS

Reactivo Anticuerpo/Sustrato (R₁): Contiene anticuerpo de ratón monoclonal para éxtasis, glucosa-6-fosfato (G6P), y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD), estabilizadores, y azida sódica como conservante.

Reactivo Conjugado enzima-droga (R₂): Contiene glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) conjugada con éxtasis 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 Ref.: 933015).

Calibrador Éxtasis (Ref.:933030):

Calibrador Nivel 0 Éxtasis: Contiene orina negativa humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Nivel 1 Éxtasis: Contiene 100 ng/mL éxtasi en orina humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Nivel 2 Éxtasis: Contiene 500 ng/mL éxtasi en orina humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Nivel 3 Éxtasis: Contiene 750 ng/mL éxtasi en orina humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Nivel 4 Éxtasis: Contiene 1000 ng/mL éxtasi en orina humana con azida sódica como conservante.

Calibrador Éxtasis (Cut-off 500 ng/mL): Contiene 500 ng/mL éxtasi en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.:932935).

Control Éxtasis: Contiene 375 y 625 ng/mL éxtasi en orina humana con azida sódica como conservante (Ref.:935935).

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 muestras deben estar a temperatura ambiente (18-25°C) 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.

Punto corte (ng/mL)	Niveles Calibrador (ng/mL)		Niveles Control (ng/mL)
	CUALITATIVO	SEMI-CUANTITATIVO	
500	Cut-off (500)	Nivel 0 (0) Nivel 1 (100) Nivel 2 (500) Nivel 3 (750) Nivel 4 (1000)	Control -25% (375) Control +25% (625)

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 (500 ng/ml) de éxtasi se utilizan como referencia para distinguir muestras positivas y negativas. Una muestra con un incremento de absorbancia (Δ mA/min) igual o mayor que el punto de corte utilizado es considerada positiva. Una muestra con un incremento de absorbancia (Δ mA/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 éxtasi 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 de Nivel 375 y 625 ng/mL (códigos 935935) o bien con Controles comerciales.

LIMITACIONES

1. Un resultado positivo del ensayo sólo indica presencia de éxtasi.
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. Baselt RC and Cravey RH. "Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man". Chemical Toxicology Institute, 4th ed. Foster City, CA., 1995
4. 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.: MD930058

Cont.

 R1: 2 x 40 mL
R2: 2 x 15 mL