

ARK™ Methylphenidate Metabolite Assay

Lea atentamente el presente folleto ilustrativo de ARK Diagnostics, Inc. antes de usar el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK. Aténgase a las instrucciones que figuran en este folleto. Este ensayo es un método analítico fácil y rápido de cribado para la detección de metabolito de metilfenidato en la orina. No se garantizará la fiabilidad de los resultados del ensayo en caso de que no se observen las instrucciones de este folleto ilustrativo.

Atención al cliente





ARK Diagnostics, Inc.

48089 Fremont Blvd
 Fremont, CA 94538 EE. UU.
 Tel.: 1-877-869-2320
 Fax: 1-510-270-6298
 customersupport@ark-tdm.com
 www.ark-tdm.com



Emergo Europe
 Prinsessegracht 20
 2514 AP La Haya
 Países Bajos

Leyenda de los símbolos empleados

	Código del lote	 AAAA-MM-DD	Fecha de caducidad
	N° de catálogo		Fabricante
	Representante autorizado		Distintivo CE
	Consultar las instrucciones para el uso	 	Reactivo 1 / Reactivo 2
	Límite de temperatura		Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
Rx Only	Para uso exclusivo bajo prescripción médica		

1 Nombre

ARK™ Methylphenidate Metabolite Assay

2 Uso previsto

El Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK es un inmunoensayo destinado a determinar cualitativa y/o cuantitativamente el metabolito de metilfenidato en la orina humana con una concentración de corte de 100 ng/ml. Este ensayo está previsto para su uso en laboratorios con analizadores químico-clínicos automatizados. Este dispositivo diagnóstico *in vitro* es para uso exclusivo bajo prescripción médica.

La modalidad semicuantitativa (1) le permite a los laboratorios determinar una dilución adecuada de la muestra mediante un método de confirmación como la cromatografía de gases con detección por espectrometría de masas (GC/MS) o la cromatografía de líquidos acoplada con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) o (2) establecer procedimientos de control de calidad.

El Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK proporciona sólo un resultado analítico preliminar. Hay que utilizar un método químico alternativo más específico a fin de obtener un resultado analítico confirmado. La cromatografía de gases asociada a la espectrometría de masas (GC/MS) o la cromatografía líquida asociada a la espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) son los métodos preferidos de confirmación. Son necesarias las consideraciones clínicas y el juicio profesional como con cualquier ensayo de fármacos, en particular si el resultado de la prueba preliminar es positivo.

3 Resumen y explicación de la prueba

El metilfenidato (Ritalin®) es un estimulante leve del sistema nervioso central, que se emplea para el tratamiento del trastorno por déficit de atención con hiperactividad (TDAH o ADHD por sus siglas en inglés)¹. Según la Ley de Sustancias Controladas de Estados Unidos (United States Controlled Substances Act²), el metilfenidato es una sustancia de clasificación II al presentar un alto potencial de abuso debido a sus propiedades farmacéuticas, parecidas a las de la anfetamina y la cocaína³. La vía metabólica principal del metilfenidato pasa por la de-esterificación a ácido ritalínico (metabolito del metilfenidato); el 80% de una administración es excretado en la orina como ácido ritalínico^{3,4}, mientras una cantidad inferior al 11% es excretada en la orina en forma de metilfenidato sin modificar^{4,5}.

4 Principios del procedimiento

El Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK es una técnica de inmunoensayo enzimático homogéneo utilizada para el análisis del metabolito de metilfenidato en la orina humana. El Ensayo se basa en la competición entre el fármaco presente en la muestra y el fármaco marcado con la enzima recombinante glucosa-6 fosfato deshidrogenasa (rG6PDH) a la hora de unirse al

anticuerpo. Cuando el último se une al anticuerpo, la actividad enzimática disminuye. En presencia de fármaco de la muestra la actividad enzimática aumenta y está directamente relacionada con la concentración del fármaco. La enzima activa convierte la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) en NADH en presencia de glucosa-6-fosfato (G6P), dando por resultado un cambio de absorbancia que se mide espectrofotométricamente. La G6PDH endógena no interfiere en los resultados porque la coenzima NAD funciona sólo con la enzima bacteriana usada en el ensayo.

5 Reactivos

REF	Descripción del producto	Cantidad/Volumen
5042-0001-00	ARK™ Methylphenidate Metabolite Assay Reactivo R1 – Anticuerpo/Sustrato Anticuerpos policlonales de conejo contra el metabolito del metilfenidato, glucosa-6-fosfato, dinucleótido de nicotinamida y adenina, albumina de suero bovino, azida de sodio y estabilizantes	1 X 28 ml
	Reactivo R2 – Enzima Derivado de metabolito de metilfenidato marcado con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa recombinante (rG6PDH), albúmina sérica bovina, tampón, azida sódica y estabilizantes	1 X 14 ml

Manipulación y almacenamiento de reactivo

Los reactivos del Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK se suministran líquidos, listos para el uso y se pueden utilizar directamente del frigorífico. Cuando no se están usando, los reactivos se deben almacenar a una temperatura entre 2°C y 8°C (36-46°F) de pie y con el tapón de rosca bien cerrado. Si se han almacenado correctamente a las condiciones indicadas, los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No congelar los reactivos. Evitar la exposición prolongada a temperaturas superiores a los 32°C (90°F). **Un almacenamiento incorrecto de los reactivos puede comprometer el resultado del ensayo.**

Los productos ARK para el metabolito del metilfenidato contienen ≤0,09% de azida de sodio. Como medida de precaución, se debería enjuagar la tubería afectada y la instrumentación con agua abundante para prevenir la posible acumulación de azidas metálicas explosivas. No se requieren precauciones especiales a la hora de manejar los demás componentes del ensayo.

6 Advertencias y precauciones

- Para uso diagnóstico *in vitro*. Para uso exclusivo bajo prescripción médica.
- Los reactivos R1 y R2 se suministran juntos en un kit y no se deberían intercambiar con reactivos que lleven otro número de lote.
- No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad.
- Los reactivos contienen ≤0,09% de azida de sodio.

7 Recogida de muestras y preparación para el análisis

- Se requiere orina humana. Tratar como material potencialmente infeccioso.
- Tomar las muestras usando recipientes y procedimientos estándares. Es importante preservar la integridad física y química de la muestra de orina desde el momento de su toma hasta el momento del ensayo (incluyendo el transporte). Se recomienda usar muestras de orina recientes.
- Tapar la muestra de orina inmediatamente después de su recogida, conservar refrigerada a 2-8° C (36-46° F) y ejecutar el ensayo dentro de 7 días. Si no es posible ejecutar el ensayo dentro de 7 días, congelar la muestra.
- Para preservar la integridad de la muestra, no provocar espuma y evitar los congelamientos y descongelamientos.
- Antes del análisis, descongelar completamente las muestras y mezclar bien.
- Antes de la prueba, centrifugar las muestras que sean muy turbias o presenten materia particulada visible.
- El rango de pH recomendado para las muestras de orina es de 4.0 – 11.0⁷.
- Tomar otra muestra para la prueba si se sospecha que la muestra haya sido adulterada. La adulteración de las muestras de orina puede afectar los resultados del ensayo.

8 Procedimiento

Material suministrado

Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK – **REF** 5042-0001-00

Material requerido (se suministra por separado)

Calibrador del metabolito de metilfenidato de ARK – **REF** 5042-0002-00

Calibrador A del metabolito de metilfenidato de ARK (negativo) – **REF** 5042-0002-01

Calibrador B del metabolito de metilfenidato de ARK (corte) – **REF** 5042-0002-02

Controles de calidad - Control del metabolito de metilfenidato de ARK – **REF** 5042-0003-00

Instrumentación

Antes del uso, puede ser necesario transferir los reactivos **R1** y **R2** a recipientes específicos del analizador en cuestión. Evitar la contaminación cruzada de **R1** y **R2**. Para el mantenimiento cotidiano correcto, consultar el manual de instrucciones del instrumento. Consulte la ficha de aplicación específica del analizador para programar el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK o póngase en contacto con el servicio de atención al cliente.

Secuencia del ensayo

Para ejecutar o calibrar el ensayo, véase el manual específico del instrumento.

Resultados cualitativos

Use el Calibrador B de 100 ng/ml como calibrador de corte para distinguir entre las muestras positivas y las negativas. Ejecute los controles del metabolito de metilfenidato de ARK Bajo (50 ng/ml) y Alto (150 ng/ml) como Negativo y Positivo respectivamente. Anotar como Negativos los resultados de la prueba inferiores al valor de respuesta del Calibrador de Corte. Anotar como Positivos los resultados iguales o superiores al valor de respuesta del Calibrador de Corte.

Resultados semicuantitativos

Ejecutar una calibración (de 5 puntos) por duplicado. Verificar la curva de calibración con controles de calidad del metabolito de metilfenidato de ARK Bajo (50 ng/ml) y Alto (150 ng/ml) en conformidad con el plan de aseguramiento de calidad fijado en el laboratorio. Las muestras con resultados por encima del nivel máximo del calibrador del metabolito de metilfenidato (1000 ng/ml) pueden ser diluidas en el Calibrador A del metabolito de metilfenidato de ARK (orina Negativa) y vueltas a testar.

Cuándo repetir la calibración

- Siempre que se vayan a utilizar reactivos de un nuevo lote
- Siempre que resulte necesario en base a los resultados del control de calidad
- Siempre que lo prevean los protocolos estándar de laboratorio
- La curva de calibración guardada se ha revelado efectiva para al menos 8 días (en base a los datos disponibles).

Control de calidad (QC) y Calibración

Es tarea de los laboratorios definir los procedimientos QC para el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK. Todos los controles de calidad y las pruebas se deben ejecutar en cumplimiento de las normativas locales, regionales o nacionales y de los requisitos de acreditación.

Cada laboratorio debería fijar sus propios márgenes para cada nuevo lote de controles. Los resultados del control deberían caer dentro de los márgenes establecidos por los procedimientos y directivas de laboratorio. El Control del metabolito de metilfenidato de ARK está concebido para ser usado en el control de calidad del Ensayo del metabolito del metilfenidato de ARK.

En el modo cualitativo, el Control Bajo debería ser Negativo y el Control Alto debería ser Positivo en relación al calibrador de corte de 100 ng/ml.

9 Resultados y valores previstos

No es posible determinar la concentración efectiva del metabolito de metilfenidato. Se requiere un método de confirmación.

Análisis cualitativo – Resultados negativos

Una muestra que arroje un valor de respuesta inferior al valor de respuesta de corte del Calibrador B del metabolito de metilfenidato es interpretada como negativa, es decir, que la muestra no contiene metabolito de metilfenidato o el

metabolito de metilfenidato está presente en una concentración por debajo del límite de corte de referencia utilizado para este ensayo.

Análisis cualitativo – Resultados positivos

Una muestra que arroje un valor de respuesta igual o superior al valor de respuesta de corte del Calibrador B del metabolito de metilfenidato es interpretada como positiva indicando pues presencia de metabolito de metilfenidato.

Análisis semicuantitativo

Los resultados positivos del análisis semicuantitativo le permiten al laboratorio determinar una dilución adecuada de la muestra para el método de confirmación. El análisis semicuantitativo también le permite al laboratorio definir procedimientos de control de calidad y evaluar la reproducibilidad. Las muestras con resultados por encima del nivel máximo del calibrador del metabolito de metilfenidato (1000 ng/ml) pueden ser diluidas en el Calibrador A del metabolito de metilfenidato de ARK (orina Negativa) y vueltas a testar.

Los resultados de esta prueba deberán interpretarse siempre de acuerdo con el historial médico del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

10 Límites

- El ensayo ha sido concebido para ser usado solamente con orina humana.
- Los reactivos del Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK, los calibradores y los controles han sido desarrollados como productos asociados. No se garantiza el funcionamiento correcto si se utilizan productos sustitutos.
- Si el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK arroja un resultado positivo significa únicamente que hay presencia de metabolito de metilfenidato, no hay necesariamente relación con efectos fisiológicos ni psicológicos.
- **No usar ácido bórico como conservante.**
- La interpretación de los resultados debe tener en cuenta que las concentraciones en la orina pueden variar mucho dependiendo de la toma de líquidos o ser influenciadas por otras variables biológicas.
- Es posible que otras sustancias, diferentes a las testadas en el estudio de especificidad, interfieran en la prueba alterando los resultados.

11 Características de rendimiento específico

Las características de rendimiento siguientes fueron obtenidas con un analizador químico-clínico automático Beckman Coulter AU480[®] usando el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK.

Precisión

Fue añadido metabolito de metilfenidato (0,0 - 200,0 ng/ml) a orina humana negativa, libre de fármaco. Cada nivel fue ensayado por cuadruplicado dos

veces al día durante 20 días (N=160) tanto en el modo cualitativo como en el semicuantitativo. Los resultados figuran en las tablas de abajo.

Precisión cualitativa

Orina humana (ng/ml)	Límite de corte (%)	# de determinaciones	Resultados
0,0	-100	160	160 Negativo
50,0	-50	160	160 Negativo
75,0	-25	160	160 Negativo
100,0	Límite de corte	160	69 Negativo 91 Positivo
125,0	+25	160	160 Positivo
150,0	+50	160	160 Positivo
200,0	+100	160	160 Positivo

Precisión semicuantitativa

Orina humana (ng/ml)	Límite de corte relativo %	# de determinaciones	Promedio (ng/ml)	Resultados	Repetibilidad (precisión intraserial)		Intralaboratorio (precisión total)	
					DE	CV (%)	DE	CV (%)
0,0	-100	160	1,2	160 Negativo	1,22	NA	1,76	NA
50,0	-50	160	51,7	160 Negativo	3,58	6,9	4,84	9,4
75,0	-25	160	74,8	160 Negativo	4,59	6,1	6,35	8,5
100,0	Límite de corte	160	99,6	92 Negativo 68 Positivo	5,37	5,4	7,48	7,5
125,0	+25	160	125,2	160 Positivo	5,50	4,4	8,15	6,5
150,0	+50	160	149,2	160 Positivo	7,03	4,7	9,31	6,2
200,0	+100	160	201,1	160 Positivo	7,75	3,9	11,34	5,6

Recuperación analítica

Fue evaluada la recuperación analítica a lo largo del rango del ensayo usando el modo semicuantitativo. Fue añadido metabolito de metilfenidato (1,250 ng/ml) a orina humana negativa, libre de fármaco y fueron efectuadas diluciones proporcionales con orina humana libre de fármaco. Las concentraciones del metabolito de metilfenidato oscilaban entre 0,0 ng/ml y 1000,0 ng/ml. A cada nivel, la recuperación porcentual fue calculada basándose en la media de concentración (N=6) comparada con la concentración prevista. Los resultados figuran en la tabla de abajo.

Concentración teórica (ng/ml)	Concentración media (ng/ml)	Recuperación (%)
0,0	1,5	NA
25,0	23,8	95,1
50,0	47,8	95,6
100,0	99,8	99,8
200,0	195,1	97,6
400,0	386,5	96,6
600,0	563,3	93,9
800,0	756,1	94,5
1000,0	923,7	92,4

Especificidad analítica

La reactividad cruzada de los compuestos estructuralmente relacionados fue evaluada agregando dichos compuestos a orina humana negativa libre de fármaco y testada con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK tanto cualitativa como semicuantitativamente. Los compuestos relacionados en la tabla de abajo fueron negativos a las concentraciones testadas con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK.

Concentración del	compuesto probado (µg/ml)
6-acetilmorfina	10
Amitriptilina	100
Anfetamina	100
Clorpromazina	50
Clomipramina	50
Ciclobenzaprina	10
Desipramina	50
Dextrometorfán	100
Doxepina	50
EDDP	100
EMDP	50
Fentanilo	100
Fluoxetina	50
Imipramina	30
Ketamina	100
Meperidina	100
Metadona	100
Metapirileno	10
Metilfenidato	25
Morfina	100
Morfina-3-glucurónido	50
Norcodeina	50
Norfentanilo	100
Norketamina	100
Normeperidina	100
Normorfina	50
Noroxicodona	50
Nortriptilina	25
Pentazocina (Talwin)	10
Fenciclidina	100
Risperidona	2
Tioridazina	50
Tramadol	100
N-desmetiltramadol	100
O-desmetiltramadol	100
Trazodona	10
Venlafaxina	100
4-Hidroxibenzoato de propilo	100
4-Hidroxibenzoato de metilo	100

Interferencia – Compuestos estructuralmente no relacionados

Fueron añadidas altas concentraciones de los siguientes compuestos estructuralmente no relacionados en orina con metabolito de metilfenidato (\pm 50% de la concentración del límite de corte) y probadas con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK tanto cualitativa como semicuantitativamente. Las sustancias relacionadas abajo no arrojaron un resultado falso respecto al corte de 100 ng/ml.

Concentración del	compuesto probado ($\mu\text{g/ml}$)	50 ng/ml (-50% de corte)	150 ng/ml (+50% de corte)
Acetaminofén	500	Negativo	Positivo
Ácido acetilsalicílico	1000	Negativo	Positivo
Salbutamol	100	Negativo	Positivo
Amobarbital	100	Negativo	Positivo
Benzoilecgonina	100	Negativo	Positivo
Buprenorfina	100	Negativo	Positivo
Glucurónido de buprenorfina	10	Negativo	Positivo
Bupropión	50	Negativo	Positivo
Cafeína	100	Negativo	Positivo
Carbamazepina	100	Negativo	Positivo
Codeína	100	Negativo	Positivo
Dihidrocodeína	100	Negativo	Positivo
Ecgonina	100	Negativo	Positivo
Efedrina	100	Negativo	Positivo
Flufenacina	25	Negativo	Positivo
Heroína	50	Negativo	Positivo
Hidrocodona	100	Negativo	Positivo
Hidromorfona	100	Negativo	Positivo
Ibuprofeno	500	Negativo	Positivo
Levorfanol	50	Negativo	Positivo
Lidocaína	50	Negativo	Positivo
Maprotrilina	50	Negativo	Positivo
Metacualona	50	Negativo	Positivo
Metronidazol	300	Negativo	Positivo
Naloxona	50	Negativo	Positivo
Naltrexona	50	Negativo	Positivo
Nicotina	10	Negativo	Positivo
Norbuprenorfina	50	Negativo	Positivo
Oxazepam	100	Negativo	Positivo
Oxicodona	100	Negativo	Positivo
Oximorfona	50	Negativo	Positivo
Fenobarbital	100	Negativo	Positivo
Propoxifeno	50	Negativo	Positivo

Concentración del	compuesto probado (µg/ml)	50 ng/ml (-50% de corte)	150 ng/ml (+50% de corte)
Ranitidina	100	Negativo	Positivo
Secobarbital	100	Negativo	Positivo
Tapentadol	50	Negativo	Positivo
Tilidina	50	Negativo	Positivo
Ácido valproico	500	Negativo	Positivo

Interferencia - Sustancias endógenas

Fueron añadidas altas concentraciones de las siguientes sustancias endógenas a orina con metabolito de metilfenidato (\pm 50% de la concentración de corte). No se observó interferencia alguna al testar con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK tanto en modo cualitativo como en modo semicuantitativo.

Concentración del	compuesto probado (mg/dl)	50 ng/ml (-50% de corte)	150 ng/ml (+50% de corte)
Acetona	1000	Negativo	Positivo
Ácido ascórbico	200	Negativo	Positivo
Bilirrubina (conjugada)	2	Negativo	Positivo
Bilirrubina (no conjugada)	2	Negativo	Positivo
Creatinina	400	Negativo	Positivo
Etanol	1000	Negativo	Positivo
Galactosa	10	Negativo	Positivo
Glucosa	3000	Negativo	Positivo
Hemoglobina	300	Negativo	Positivo
Albumina humana	500	Negativo	Positivo
Gamaglobulina humana	500	Negativo	Positivo
Ácido oxálico	30	Negativo	Positivo
Riboflavina	3,75	Negativo	Positivo
Cloruro de sodio	900	Negativo	Positivo
Urea	1000	Negativo	Positivo

Interferencia – Ácido bórico

Fue añadido un uno por ciento (1%) peso/volumen de ácido bórico en orina con metabolito de metilfenidato (\pm 50% de la concentración del límite de corte) y fue probado con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK tanto cualitativa como semicuantitativamente. Los resultados figuran en la tabla de abajo.

Concentración del	compuesto probado	50 ng/ml (-50% de corte)	150 ng/ml (+50% de corte)
Ácido bórico	1% peso/volumen	Negativo	Negativo

Interferencia – Gravedad específica y pH

Fueron probadas muestras de orina con valores de gravedad específica entre 1.000 y 1.035 y valores pH que oscilaban entre el 3,0 y el 11,0 en presencia de dos niveles de metabolito de metilfenidato a \pm un 50% de concentración de corte. No se observó interferencia alguna al testar con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK tanto en modo cualitativo como en modo semicuantitativo.

Comparación de métodos

En un total de ciento diecinueve (119) muestras de orina clínica sin alteraciones, no asignables individualmente, se analizó la presencia del metabolito del metilfenidato con el Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK cualitativa y semicuantitativamente, y los resultados fueron comprobados con LC-MS/MS. El método de confirmación LC-MS/MS fue ejecutado por un laboratorio de referencia con licencia. Los resultados figuran en las tablas de abajo.

		LC-MS/MS	
		(+)	(-)
Ensayo del metabolito de metilfenidato de ARK (límite de corte de 100 ng/ml)	(+)	64	1*
	(-)	0	54

* Resultado discordante

Identificativo de la muestra	Resultado cualitativo de ARK	Resultado semicuantitativo de ARK	Resultado de LC-MS/MS
11P	Positivo	123,7 ng/ml	94 ng/ml

12 Bibliografía

1. Prescribing Information. 2017 Ritalin[®]. Novartis Pharmaceuticals Corporation (East Hanover, New Jersey).
2. United States Drug Enforcement Administration (DEA). Controlled Substances Act (CSA).
3. Morton, W.A & Stockton, G.G. 2000 Methylphenidate Abuse and Psychiatric Side Effects. *Primary Care Companion J Clin Psychiatry*. **2(5)**: 159-164.
4. Hungund, B.L. et al. 1979 Pharmacokinetics of Methylphenidate in Hyperkinetic Children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **8**: 571-576.
5. Wells, R. et al. 1974 Gas-Liquid Chromatographic Procedure for Measurement of Methylphenidate Hydrochloride and Its Metabolite, Ritalinic Acid, in Urine. *Clin. Chem.* **20(4)**: 440-443.
6. Department of Health and Human Services (DHHS), Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs. Federal Register / Vol. 69, No. 71 / Tuesday, April 13, 2004 (Effective Date: November 1, 2004) / Notices.
7. Department of Health and Human Services (DHHS), Substance Abuse and Mental Health Services Administration. Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs. Federal Register / Vol. 82, No. 13 / Monday, January 23, 2017 (Effective Date: October 1, 2017) / Notices.

13 Marcas registradas

ARK[™] es una marca registrada de ARK Diagnostics, Inc.

Donde aparezcan otros nombres de producto, estos también podrían ser marcas registradas.



ARK Diagnostics, Inc.
Fremont, CA 94538 EE. UU.

Impreso en EE.UU.
Revisado en junio del 2018
1600-0632-00ES Rev 02