

ARK™ Pregabalin II Assay

Lea atentamente el presente folleto ilustrativo de ARK Diagnostics, Inc. antes de usar el Ensayo de pregabalina II de ARK. Aténgase a las instrucciones que figuran en este folleto. Este ensayo representa un método analítico de cribado fácil y rápido para determinar la presencia de pregabalina 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
	Nº 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™ Pregabalin II Assay

2 Uso previsto

El Ensayo de pregabalina II de ARK es un inmunoensayo destinado a determinar cualitativa y/o semicuantitativamente la pregabalina en la orina humana con una concentración de corte de 500 ng/ml. Este ensayo está previsto para su uso en laboratorios con analizadores químico-clínicos automatizados. Este dispositivo de diagnóstico *in vitro* es para uso exclusivo bajo prescripción médica.

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

El Ensayo de pregabalina II de ARK proporciona sólo un resultado analítico preliminar. Hay que utilizar un método químico alternativo más específico a fin de obtener un resultado analítico positivo confirmado. La cromatografía de gases / espectrometría de masas (GC/MS) o la cromatografía líquida / espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) es el método preferido de confirmación.¹ Son necesarias las consideraciones clínicas y el juicio profesional como con cualquier resultado de prueba de fármacos, en particular si el resultado de la prueba preliminar es positivo.

3 Resumen y explicación de la prueba

En Europa, la pregabalina está aprobada para el tratamiento de la epilepsia (crisis parciales), el dolor neuropático y el trastorno de ansiedad generalizada.² En los Estados Unidos, la pregabalina está aprobada para el tratamiento de la epilepsia (crisis parciales), el dolor neuropático asociado a la diabetes, la neuropatía postherpética y la fibromialgia.³ La pregabalina no es metabolizada en el organismo de manera significativa, si no que se excreta casi exclusivamente de manera inalterada en la orina por filtración glomerular.⁴

La pregabalina está clasificada como un fármaco de la Lista V en la Ley de Sustancias Controladas por la Administración de Control de Drogas de los Estados Unidos.⁵ En la Unión Europea, la pregabalina está sujeta a prescripción especial o restringida; en junio de 2010 fue añadida una advertencia relacionada con su potencial de abuso⁶⁻⁸ al Resumen de las características del producto.⁹

El Ensayo de la pregabalina II de ARK comprueba la presencia de pregabalina en la orina humana arrojando un resultado positivo si este fármaco alcanza concentraciones iguales o mayores que el valor límite.

4 Principios del procedimiento

El Ensayo de pregabalina II de ARK es una técnica de inmunoensayo enzimático homogéneo utilizada para el análisis de pregabalina en orina humana. El ensayo se basa en la competición entre el fármaco presente en la muestra y el fármaco marcado con glucosa-6 fosfato deshidrogenasa recombinante (rG6PDH) a la hora de unirse al anticuerpo. Cuando este 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), resultando en 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
5059-0001-00	ARK Pregabalin II Assay Reactivo R1 – Anticuerpo/Sustrato Anticuerpos monoclonales de conejo ante la pregabalina, 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 pregabalina marcado con glucosa-6-fosfato deshidrogenasa recombinante (rG6PDH), tampón, azida de sodio y estabilizadores	1 X 14 ml

Manipulación y almacenamiento de reactivo

Los reactivos del Ensayo de pregabalina II de ARK se suministran en forma líquida, listos para el uso y pueden ser usados inmediatamente después de sacarlos 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 de pregabalina II de ARK 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 $\leq 0,09\%$ 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 en los 7 días posteriores a su recogida. Si el ensayo no puede realizarse dentro de los 7 días establecidos, almacene la muestra de orina congelada a -20°C.^{10,11}
- 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 - 11,0.¹²
- 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 de la prueba.

8 Procedimiento

Material suministrado

Ensayo de pregabalina II de ARK – [REF] 5059-0001-00

Material requerido (se suministra por separado)

Calibrador de pregabalina II de ARK – [REF] 5059-0002-00

Controles de calidad - Control de pregabalina II de ARK – [REF] 5059-0003-00

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 de pregabalina II 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 de la instrumentación.

Resultados cualitativos

Utilice el Calibrador C de 500 ng/ml como Calibrador de Corte para distinguir las muestras negativas de las positivas. Ejecute los Controles ARK de pregabalina II Low (250 ng/ml) y High (750 ng/ml) como Negativo y Positivo respectivamente. Anotar como Negativos los resultados de la prueba que sean inferiores al valor de respuesta del calibrador de Corte. Anotar como Positivos los resultados de la prueba que sean 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 los controles de calidad ARK para la pregabalina II Low (250 ng/ml) y High (750 ng/ml) en conformidad con el plan de aseguramiento de la calidad establecido en el laboratorio. Las muestras con resultados por encima del nivel máximo del calibrador de la pregabalina II de ARK (2000 ng/ml) pueden ser diluidas en el Calibrador A de pregabalina II de ARK (orina Negativa) y testadas nuevamente.

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 6 días (en base a los datos disponibles).

Control de calidad (QC) y Calibración

Es tarea de los laboratorios definir los procedimientos de control de calidad para el Ensayo de la pregabalina II de ARK. Todos los controles de calidad y las pruebas deberían ser ejecutados en cumplimiento de las normativas locales, regionales o nacionales o 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 directrices de laboratorio. El Control de pregabalina II de ARK está concebido para ser usado en el control de calidad del Ensayo de pregabalina II de ARK.

En el Modo Cualitativo, el Control Low debería ser Negativo y el Control High debería ser Positivo en relación al Calibrador de Corte de 500 ng/ml.

9 Resultados y valores previstos

Es imposible determinar la concentración efectiva de pregabalina. Se requiere un método de confirmación.

Análisis cualitativo – Resultados negativos

Una muestra que arroje un valor de respuesta inferior al valor del Calibrador de Corte C de pregabalina II de ARK se interpreta como negativa, es decir el resultado no varía si la muestra no contiene pregabalina o la pregabalina está presente en una concentración por debajo del límite de corte utilizado para este ensayo.

Análisis cualitativo – Resultados positivos

Una muestra que arroje un valor igual o superior al Calibrador de C corte de pregabalina II de ARK es interpretada como positiva indicando pues presencia de pregabalina.

Análisis semicuantitativo

Los resultados semicuantitativos de las muestras positivas le permiten al laboratorio determinar una dilución adecuada de la muestra para el método de confirmación. Los resultados semicuantitativos también le permiten al laboratorio establecer procedimientos de control de calidad y evaluar la reproducibilidad. Las muestras con resultados por encima del nivel máximo del calibrador de la pregabalina II de ARK (2000 ng/ml) pueden ser diluidas en el Calibrador A de pregabalina II de ARK (orina Negativa) y testadas nuevamente.

El resultado de esta prueba deberá interpretarse siempre de acuerdo con el historial médico del paciente, la sintomatología clínica y otras observaciones.

10 Restricciones

- El ensayo ha sido concebido para ser usado solamente con orina humana.
- Los reactivos del Ensayo de pregabalina II de ARK, los calibradores y los controles han sido desarrollados como productos asociados. No se garantizan los resultados si se utilizan productos sustitutos.
- Si el Ensayo de pregabalina II de ARK arroja un resultado positivo indica solo presencia de pregabalina, no hay necesariamente relación con la envergadura de los efectos fisiológicos o psicológicos.
- La interpretación de los resultados debe tener en cuenta que las concentraciones en la orina pueden variar mucho con la toma de líquidos o bien 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

Los datos de rendimiento que aparecen en este apartado fueron recogidos en un analizador químico-clínico automático Beckman Coulter AU680[®] usando el Ensayo de pregabalina II de ARK.

Precisión

Se añadió pregabalina (0,0 a 1000,0 ng/ml) a orina humana negativa, libre de fármaco. Cada nivel fue ensayado en cuadruplicado dos veces al día durante 20 días (N=160) y evaluado cualitativa y semicuantitativamente. Los resultados figuran en las tablas de abajo.

Precisión cualitativa

Orina humana (ng/ml)	Límite de corte (%)	# de determinaciones	Resultados de precisión cualitativa
0,0	-100	160	160 Negativo
125,0	-75	160	160 Negativo
250,0	-50	160	160 Negativo
375,0	-25	160	160 Negativo
500,0	Límite de corte	160	18 Negativo 142 Positivo
625,0	+25	160	160 Positivo
750,0	+50	160	160 Positivo
875,0	+75	160	160 Positivo
1000,0	+100	160	160 Positivo

Precisión semicuantitativa

Orina humana (ng/ml)	Límite de corte relativo %	# de los resultados	Promedio (ng/ml)	Resultados de precisión semicuantitativa
0,0	-100	160	2,6	160 Negativo
125,0	-75	160	133,6	160 Negativo
250,0	-50	160	263,3	160 Negativo
375,0	-25	160	392,3	160 Negativo
500,0	Límite de corte	160	525,3	19 Negativo 141 Positivo
625,0	+25	160	645,8	160 Positivo
750,0	+50	160	786,6	160 Positivo
875,0	+75	160	882,6	160 Positivo
1000,0	+100	160	1048,3	160 Positivo

Recuperación analítica

La recuperación fue evaluada a lo largo del rango del ensayo usando el modo semicuantitativo. Se añadió pregabalina (2400,0 ng/ml) a orina humana negativa, libre de fármaco y se hicieron diluciones proporcionales con orina humana libre de fármaco. Las concentraciones de pregabalina oscilaban entre 50,0 ng/ml y 2000,0 ng/ml. A cada nivel, la recuperación porcentual fue calculada basándose en la concentración media (N=6) comparada con la concentración prevista. Los resultados figuran en la tabla de abajo.

Concentración teórica (ng/ml)	Concentración media (ng/ml)	Recuperación (%)
50,0	56,6	113,2
100,0	110,1	110,1
200,0	195,0	97,5
300,0	313,1	104,4
400,0	412,3	103,1
600,0	628,5	104,8
800,0	845,9	105,7
1000,0	1054,3	105,4
1200,0	1274,3	106,2
1600,0	1665,2	104,1
2000,0	2127,7	106,4

Especificidad analítica

Gabapentina y aminoácidos

El Ensayo de pregabalina II de ARK detecta pregabalina en la orina humana. El metabolismo de la pregabalina es insignificante en los seres humanos.¹³

Todos los compuestos probados fueron agregados a orina humana negativa, libre de fármaco, y probados con el Ensayo de pregabalina II de ARK tanto en modo cualitativo como semicuantitativo.

La siguiente tabla incluye la gabapentina y los L-aminoácidos que producen un resultado negativo en la concentración probada al no alcanzar una respuesta equivalente al límite de corte de 500 ng/ml. Si una muestra contiene más de un compuesto detectado por el ensayo, concentraciones más bajas que las indicadas en esta tabla podrían combinarse para generar una tasa igual o mayor que el Calibrador de Corte. Los datos presentados son representativos del rendimiento típico de este ensayo.

Compuesto	Concentración testada (ng/ml)	Resultado del modo semicuantitativo (positivo/negativo)	Resultado del modo cualitativo (positivo/negativo)
Gabapentina	5.000.000	Negativo	Negativo
L-alanina	200.000	Negativo	Negativo
L-arginina	200.000	Negativo	Negativo
L-asparagina	200.000	Negativo	Negativo
Ácido L-aspártico	200.000	Negativo	Negativo
L-cisteína	200.000	Negativo	Negativo

Compuesto	Concentración testada (ng/ml)	Resultado del modo semicuantitativo (positivo/negativo)	Resultado del modo cualitativo (positivo/negativo)
Ácido L-glutámico	200.000	Negativo	Negativo
L-glutamina	200.000	Negativo	Negativo
L-glicina	200.000	Negativo	Negativo
L-histidina	200.000	Negativo	Negativo
L-isoleucina	200.000	Negativo	Negativo
L-leucina	200.000	Negativo	Negativo
L-lisina	200.000	Negativo	Negativo
L-metionina	200.000	Negativo	Negativo
L-fenilalanina	200.000	Negativo	Negativo
L-prolina	200.000	Negativo	Negativo
L-serina	200.000	Negativo	Negativo
L-treonina	200.000	Negativo	Negativo
L-triptófano	200.000	Negativo	Negativo
L-tirosina	200.000	Negativo	Negativo
L-valina	200.000	Negativo	Negativo

Compuestos no relacionados estructuralmente

Los siguientes compuestos estructuralmente relacionados fueron añadidos a la orina humana negativa, sin fármaco, y fueron probados con el Ensayo de pregabalina II de ARK. Los resultados se evaluaron cualitativa y semicuantitativamente. Los compuestos a las concentraciones indicadas a continuación fueron negativos cuando se probaron con el Ensayo de pregabalina II de ARK.

Compuesto	Concentración testada (ng/ml)
Ácido acetilsalicílico	500.000
6-acetilmorfina	100.000
Amitriptilina	100.000
Amoxicilina	100.000
Anfetamina	200.000
Benzoilecgonina	100.000
Cafeína	500.000
Carbamazepina	100.000
Clorpromazina	100.000
Cimetidina	100.000
Clomipramina	100.000
Codeína	100.000
Desipramina	100.000
Dextrometorfán	200.000
Dihidrocodeína	100.000
Doxepina	200.000
(1R, 2S)-(-)-efedrina	100.000
(1S, 2R)-(+)-efedrina	100.000
Fentanilo	100.000
Fluoxetina	100.000
Flufenacina	100.000
Heroína	100.000

Compuesto	Concentración testada (ng/ml)
Hidrocodona	100.000
Hidromorfona	100.000
Imipramina	100.000
Levorfanol	50.000

Interferencia - Sustancias endógenas

Fueron añadidas altas concentraciones de las siguientes sustancias endógenas a orina con pregabalina (\pm 50% de la concentración de corte). Los resultados se evaluaron cualitativa y semicuantitativamente. Al ejecutar el Ensayo de pregabalina II de ARK no se observó ninguna interferencia.

Compuesto	Concentración probada	250 ng/ml (-50% de corte)	750 ng/ml (+50% de corte)
Acetona	1000 mg/dl	Negativo	Positivo
Ácido ascórbico	1500 mg/dl	Negativo	Positivo
Bilirrubina (no conjugada)	2 mg/dl	Negativo	Positivo
Bilirrubina (conjugada)	2 mg/dl	Negativo	Positivo
Ácido bórico	1% peso/volumen	Negativo	Positivo
Creatinina	500 mg/dl	Negativo	Positivo
Etanol	1000 mg/dl	Negativo	Positivo
Galactosa	10 mg/dl	Negativo	Positivo
Glucosa	2000 mg/dl	Negativo	Positivo
Hemoglobina	300 mg/dl	Negativo	Positivo
Albumina humana	500 mg/dl	Negativo	Positivo
Gamma globulina humana	500 mg/dl	Negativo	Positivo
Ácido oxálico	100 mg/dl	Negativo	Positivo
Riboflavina	7,5 mg/dl	Negativo	Positivo
Cloruro de sodio	6000 mg/dl	Negativo	Positivo
Urea	6000 mg/dl	Negativo	Positivo

Interferencia – Gravedad específica y pH

Fueron testadas muestras de orina con valores de gravedad específica entre 1,002 y 1,030 y valores de pH entre 3,0 y 11,0 en presencia de dos niveles de pregabalina al \pm 50% de la concentración de corte. Los resultados se evaluaron cualitativa y semicuantitativamente. Al ejecutar el Ensayo de pregabalina II de ARK no se observó ninguna interferencia.

Comparación de métodos

En un total de ciento treinta y tres (133) muestras de orina humana sin alteraciones clínicas, no identificables individualmente, fue analizada la presencia de pregabalina con el Ensayo de pregabalina II de ARK en ambas modalidades, cualitativa y semicuantitativamente, y los resultados fueron comprobados con LC-MS/MS. Los resultados figuran en la tabla de abajo.

Ensayo de pregabalina II de ARK (Límite de corte 500 ng/ml)	LC-MS/MS	
	(+)	(-)
(+)	67	0
(-)	0	66

12 Bibliografía

1. Hawks R.L. 1986. Analytical methodology. In Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine testing for drugs of abuse. NIDA Research Monograph. **73**:30-41.
2. European Medicines Agency. Lyrica—summary of product characteristics. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000546/WC500046602.pdf. Accessed July 2, 2012.
3. U.S. Food and Drug Administration. Label approved on August 24, 2011, for Lyrica. Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/022488-s004-0211446s025lbl.pdf. Accessed July 2, 2012.
4. Bockbrader H.N., et al. 2010. A comparison of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pregabalin and gabapentin. Clin Pharmacokinet. **49**:661–669.
5. Drug Enforcement Administration, Department of Justice. 2005. Schedules of controlled substances: Placement of pregabalin into schedule V. Final rule. Fed Regist. **70**:43633–43635.
6. Grosshans M., et al. 2013. Pregabalin abuse among opiate addicted patients. Eur J Clin Pharmacol. **69**:2021-2025.
7. Schifano F. 2014. Misuse and abuse of pregabalin and gabapentin: Cause for concern? In: CNS Drugs, Springer International Publishing, Switzerland.
8. Baird C., et al. 2014. Gabapentinoid abuse in order to potentiate the effect of methadone: A survey among substance misusers. European Addiction Research **20**:115-118.
9. European Medicines Agency (EMA). Lyrica. Procedural steps taken after authorisation. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Procedural_steps_taken_and_scientific_information_after_authorisation/human/000546/WC500046604.pdf. Accessed February 21, 2019.

10. Cao, Z. et al. 2015. Simultaneous Quantitation of 78 Drugs and Metabolites in Urine with a Dilute-And-Shoot LC–MS-MS Assay. *Journal of Analytical Toxicology* **39**:335-346.
11. 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.
12. 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. Ben-Menachem E. 2004. Pregabalin Pharmacology and Its Relevance to Clinical Practice. *Epilepsia* **45**(Suppl. 6):13-18.

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 febrero del 2019
1600-0909-00ES Rev 01