

## INTENCIÓN DE USO

El Kit Cannabinoides directo ELISA proporciona sólo un resultado analítico preliminar cualitativo. Un método químico alternativo más específico debe ser utilizado con el fin de obtener un resultado analítico confirmado. La cromatografía de gases/espectrometría de masas (GS-MS) es el método preferido para confirmación. El juicio profesional debe aplicarse a cualquier medicamento resultado de abuso, en particular cuando se utilizan resultados preliminares positivos.

## RESUMEN Y APLICACIÓN

El Kit Cannabinoides directo ELISA es una prueba específica y sensible in vitro para detectar la presencia de Cannabinoides en muestras, como la sangre entera, suero, plasma y orina. THC (un miembro de la familia de Cannabinoides) es el principal ingrediente psicoactivo de la marihuana. Metabolitos de Cannabinoides aparecen en la orina dos a cuatro horas después de un humo de la marihuana y puede persistir durante días (hasta treinta). Así, un ensayo de orina razonablemente sirve para detectar el consumo de cannabis a pesar de un considerable período puede haber transcurrido desde que el tabaquismo o la ingestión de marihuana.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

El Kit Cannabinoides directo ELISA se basa en la unión competitiva con el anticuerpo marcado con enzima antígeno y antígeno sin marcar, en proporción a su concentración en la mezcla de reacción. A 10 µl alícuota de una muestra desconocida diluida se incubó con 100 µl dilución de la enzima (peroxidasa de rábano picante) etiquetada carboxi THC (THCA) derivado en los pozos de micro, recubiertas de cantidades fijas de alta afinidad orientado anticuerpo policlonal purificado. Los pocillos se lavan a fondo y un sustrato cromogénico añadido. El color producido se detuvo con una solución de parada de ácido diluido y los pocillos se leyó a 450 nm. La intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de fármaco en la muestra. La técnica es sensible a 1ng/ml. El kit de ELISA de THC directo evita la extracción de la muestra de orina o de sangre para la medición. Se emplea una alta afinidad policlonal, anticuerpo purificado THC carboxi. Debido al método de propiedad de orientar el anticuerpo en el micro- placa de poliestireno sensibilidad mucho mayor se consigue en comparación con la adsorción pasiva. Esto da como resultado extremadamente pequeño tamaño de la muestra para reducir los efectos de la matriz y la interferencia con las proteínas (s) de unión u otras macromoléculas.

MATERIALES PROVISTOS	96 Pruebas
1. Micropocillos revestidos con anticuerpo policlonal anti-THC carboxi	12x8x1
2. THC Conjugado	12ml
3. Inmunoanálisis Positivo de Referencia Estándar	2ml
4. Estándar Negativo	1ml
5. Sustrato TMB	12ml
6. Reactivo Detenido	11ml

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Agua destilada o desionizada.
2. Pipetas de precisión.
3. Puntas de pipetas desechables.
4. Lector Microelisas con lente a 450 nm de longitud de onda con una banda de amplitud de 10 nm o menor y un rango de densidad óptica de 0-2 OD o mayor.
5. Papel absorbente o toalla de papel.
6. Papel cuadrículado.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

1. Almacene el kit a 2-8°C.
2. Mantenga las tiras de los pocillos selladas en la bolsa de aluminio.
3. Todos los compuestos son estables hasta su fecha de expiración siempre y cuando las condiciones de almacenaje sean estrictamente llevadas a cabo como aquí se indica.
4. No exponga los reactivos al calor, luz solar o intensa luz eléctrica.

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Materiales biológicos peligrosos potenciales:

1. El calibrador y los controles contienen componentes de origen humano, que han sido probados y encontrados no reactivos para el antígeno de superficie de la hepatitis B y de anticuerpos del VIH con reactivos con licencia del FDA. Sin embargo, como no existe un método de prueba que pueda ofrecer completa seguridad de ausencia de virus de la Hepatitis B VIH u otros agentes infecciosos, estos reactivos deben ser manipulados en el nivel 2 de bioseguridad, según se recomienda en los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud manual " Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos. " 1984
2. Este kit está destinado a la detección cuantitativa de cocaína Benzoilecgonina en la orina humana.
3. No pipetear con la boca. No fumar, comer o beber en las áreas en las que las muestras o los reactivos del kit.
4. Los componentes de este kit están pensados para su uso como una unidad integral. Los componentes de diferentes lotes no deben ser mezclados.
5. Se recomienda que las muestras de suero se realizaron por duplicado.
6. Los resultados óptimos se obtienen por el estricto cumplimiento de este protocolo. Pipeteado exacto y preciso así como seguir los requisitos exactos de tiempo y temperatura prescritos son esenciales. Cualquier desviación de este puede dar datos no válidos.

## RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

### 1. Precauciones:

El Kit de Cannabinoides directo ELISA es para ser utilizado con muestras humanas tales como sangre completa, suero, orina y plasma. No ha probado todas las posibles aplicaciones de este ensayo. Los criterios de corte son importantes para decidir la dilución de la muestra. Se recomienda diluir la mayoría de muestras de sangre, ya sea 1:05 o 1:10 dependiendo del punto de corte utilizado por el laboratorio.

### 2. Aditivos:

Las muestras a las que se ha añadido acida de sodio afectan el ensayo.

### 3. Instrucciones de Almacenamiento:

Las muestras de orina deben almacenarse a 2-40°C hasta su uso. Las muestras deberán mezclarse antes del ensayo. Congelación y descongelación repetida debe ser evitado. Las muestras de orina se deben enviar refrigerado con hielo azul o equivalente.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Previo al ensayo, permita que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (18°-26°C). Mezcle suavemente los reactivos antes de su uso.

1. Diluir las muestras, a la gama necesaria con tampón fosfato salino pH 7,0. (Las muestras de orina se diluyeron 1:10 normalmente para un punto de corte THCA de 50 ng/ml.) El factor de dilución y el volumen añadido se pueden ajustar sobre la base de punto de corte del laboratorio.
2. Añadir 10 µl de diluido apropiadamente estándar a cada pocillo por duplicado.
3. Añadir 10 µl de las muestras diluidas por duplicado (recomendado) a cada pocillo.
4. Añadir 100 µl del conjugado enzimático a cada pocillo. Toque en los lados de la sujeción de la placa para asegurar una mezcla adecuada.
5. Incubar durante 60 minutos a temperatura ambiente (18-26°C) preferiblemente en la oscuridad, después de la adición de conjugado de enzima para el último pocillo.
6. Lavar los pocillos 6 veces con 350 µl. agua destilada usando un lavador de placas adecuado o botella de lavado con cuidado de no cruzar contaminar pozos. Si las muestras de prueba que contienen cantidades anormalmente altas de hemoglobina (algunas muestras de autopsia), utilizan 10 mM de fosfato tamponado salino pH 7,0-7,4. Esto reducirá el potencial unión no específica de la hemoglobina al pozo, reduciendo así el color de fondo.
7. Invierta pozos y bofetada vigorosamente seca sobre papel absorbente para eliminar todo garantizar la humedad residual. Este paso es fundamental para garantizar que el conjugado de enzima residual, no sesgar los resultados. Si se utiliza un sistema automatizado, asegurarse de que la aspiración final en los aspirados de ciclo de lavado desde cualquiera de los lados del pozo.
8. Añadir 100 µl de reactivo de sustrato a cada pocillo y puntee lados del soporte de la placa para asegurar una mezcla adecuada.
9. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente, preferiblemente en la oscuridad.
10. Añadir 100 µl de solución de parada a cada pocillo, para cambiar el color de azul a amarillo.
11. Medir la absorbancia a una longitud de onda doble de 450 nm y 650 nm.
12. Los pocillos, debe leerse dentro de 1 hora de desarrollo de color amarillo.

Los siguientes datos representan una curva típica de dosis/respuesta.

CTHC ng/ml	Absorbancia
0	1.985
2	1.413
5	0.955
10	0.751

La curva de dosis/respuesta se muestra más arriba no debe ser utilizado en los cálculos de ensayo. Se recomienda que al menos una muestra de control de calidad positiva en la empresa se incluye con cada serie de análisis. Una curva de respuesta a la dosis o un calibrador de corte deben procesarse con cada plato.

## RESULTADOS

Si la absorbancia media de la muestra es igual a o menor que la absorbancia media de la norma de referencia POSITIVO THCA laboratorio/CTHC la muestra es positiva para los Cannabinoides. Si la absorbancia media de la muestra es mayor que la absorbancia media de la norma de referencia POSITIVO THCA laboratorio/CTHC la muestra se llama NEGATIVO para los Cannabinoides. Alternativamente, una curva de respuesta a la dosis puede ser establecida por el trazado de concentración estándar (eje de abscisas) frente a la absorbancia correspondiente (ordenada). Los valores para las muestras desconocidas se obtienen por interpolación de la curva.

## PERFORMANCE

### 1. Precisión:

35 muestras de sangre entera y 60 muestras de orina recogidas de presuntos no usuarios se ensayaron en el kit Cannabinoides directo ELISA.

El 100% de estas muestras normales negativos medidos en 20 ng/ml de equivalentes de THCA para sangre entera y 50 ng/ml de equivalentes de THCA para la orina. 40 muestras de sangre entera que anteriormente se confirmaron positivos para Cannabinoides por GC-MS que emplea un punto de corte de 10 ng/ml de THCA se ensayaron en el Cannabinoides directo Kit ELISA. Se encontró que todas las muestras a ser positivo, es decir por encima del punto de corte de 20 ng/ml.

### 2. Precisión:

La precisión de los kit Cannabinoides directo ELISA ha sido verificado por la evaluación de la media, la desviación estándar (SD) y los coeficientes de variación (CV) en los datos resultantes de ensayos repetitivos.

### 3. Precisión Intra-ensayo:

Precisión Intra-ensayo se determinó con los controles de referencia. Un estándar de 0, 2, 5 y 10 ng/ml se ensayó ocho veces en el mismo ensayo.

Carboxi THC	Resumen ABS	S.D	C.V.%
0	1.905	0.139	7.3
2	1.114	0.103	9.4
5	0.752	0.066	8.8
10	0.549	0.042	7.7

### 4. Sensibilidad:

La sensibilidad del ensayo basado en la concentración mínima THCA requerida para producir una desviación estándar de cuatro de ensayo de respuesta a la dosis cero (AO) es 1 ng/ml.

### 5. Especificidad:

La especificidad del ELISA para Metabolitos de cocaína se determinó mediante la generación de curvas de inhibición para cada uno de los compuestos enumerados a continuación.

Compuesto	Aprox. ng/ml equiv. a 10 ng THCA/ml	Reactividad Cruzada
11no-9 carboxy THC	11	110
THC	48	21
THC	22	45
11-hidroxy 9-THC	1,000	5
8-11-Dihroxy-9-THC	1,000	5
Annabinal	1,000	5
Cannabidiol	1,000	5

## REFERENCIAS

1. Urine Testing for Drugs of Abuse, National Institute on Drug Abuse Research Monograph. 73, 1986.
2. Rodgers, R., Crowl C.P., Eimstad W.M., et al.: Homogeneous enzyme immunoassay for cannabinoids in urine. Clin. Chem. 24: 95 (1978).
3. Teale, J.D., Foxman, E.J., King, L.S., Pial, E.M. and Marks, V.: The development of a radioimmunoassay for cannabinoids in blood and urine. J. Pharm. Pharmacol. 27: 465 (1975).
4. Mule, S.J., Lomax, P. and Gross, S.J.: Active and passive marijuana exposure tested by three immunoassays and GC/MS in urine. J. Anal. Toxicol. 12: 113 (1988).
5. Cone, E.J. and Johnson, Contact highs and urinary cannabinoid excretion after passive exposure to marijuana smoke. Clin. Pharmacol. Ther. 40: 247 (1986).

Distribuido por:  
Grupo Industrial MexLab S.A. de C.V.  
01800-111-4343  
www.grupomexlab.com