

Test rapido per l'individuazione qualitativa di Cotinina (metabolita nicotina) nelle urine umane. Solo per la determinazione dello status di fumatore. Non destinato a uso medico diagnostico.

USO PREVISTO

Il test rapido COT (Urine) è un test immunologico rapido cromatografico per l'individuazione qualitativa di Cotinina nelle urine ad una concentrazione di soglia-limite di 200 ng/ml. Questo test individuerà anche i composti collegati, si prega di fare riferimento alla tabella Specificità Analitica nel presente foglio illustrativo.

Questo test fornisce solo un risultato preliminare. Sarà necessario servirsi di un metodo chimico alternativo più specifico per ottenere un risultato analitico di conferma. Il metodo di conferma suggerito è la Gascromatografia/Spettrometria di massa (GC/MS). È necessario un parere clinico e professionale ad ogni risultato di test per droghe da abuso, soprattutto quando i risultati preliminari sono positivi.

SOMMARIO

La Cotinina è il metabolita di primo grado della nicotina, un alcaloide tossico che causa la stimolazione dei gangli autonomi e del sistema nervoso centrale negli esseri umani. La nicotina è una sostanza a cui potenzialmente ogni membro di una società tabagista è esposto, per contatto diretto o inalazione passiva. Oltre al tabacco, la nicotina è disponibile sul mercato anche come principio attivo di terapie sostitutive del fumo come gomme, cerotti transdermici e spray nasali alla nicotina.

In un'urina di 24 ore, viene escreto circa il 5% di una dose di nicotina come droga invariata con un 10% sotto forma di Cotinina e un 35% come idrossiCotinina; si crede che le concentrazioni di altri metaboliti interessino meno del 5%.¹ Mentre si pensa che la Cotinina sia un metabolita inattivo, il suo profilo di eliminazione è più stabile di quello della nicotina, che dipende molto dal pH delle urine. Ne risulta che la Cotinina è considerato un buon marker biologico nel determinare l'uso di nicotina. L'emivita plasmatica della nicotina è di circa 60 minuti in seguito a inalazione o somministrazione parenterale.² La nicotina e la Cotinina vengono rapidamente eliminate dai reni; la finestra di individuazione della Cotinina nell'urina ad un livello di soglia-limite di 200 ng/ml è intorno a 2-3 giorni dopo l'uso di nicotina.

Il test rapido COT (Urine) è un test di screening rapido delle urine che può essere eseguito senza l'uso di strumentazione. Il test si serve di un anticorpo monoclonale per individuare selettivamente alti livelli di Cotinina nelle urine. Il test rapido COT (Urine) fornisce un risultato positivo quanto la Cotinina nelle urine supera i 200 ng/ml.

PRINCIPIO

Il test rapido COT (Urine) è un test immunologico basato sul principio del legame competitivo. Le droghe che possono essere presenti nel campione di urina competono contro il coniugato della droga per i siti di legame sull'anticorpo.

Durante il test un campione di urina migra verso l'alto per azione capillare. La Cotinina, se presente nel campione di urina al di sotto di 200 ng/mL, non saturerà i siti di legame delle particelle ricoperte di anticorpo sulla strumentazione del test. Le particelle ricoperte di anticorpo saranno quindi catturate dal coniugato di Cotinina immobilizzato e comparirà una linea colorata visibile nella zona del test. La linea colorata nella zona del test non si formerà se il livello di Cotinina supera i 200 ng/mL perché saturerà tutti i siti di legame degli anticorpi anti-Cotinina.

Un campione urina positivo alla droga non produrrà una linea colorata nella zona del test, mentre un campione di urina negativo alla droga o un campione con una concentrazione di droga inferiore al livello di soglia-limite genererà una linea colorata nella zona del test. Come controllo procedurale, comparirà sempre una linea colorata nella zona di controllo ad indicare che è stato usato un volume corretto di campione e che la membrana è stata imbevuta.

REAGENTI

Il test contiene particelle di anticorpo monoclonale accoppiato anti-Cotinina di topo e coniugato proteico di Cotinina. Un anticorpo di capra viene impiegato nel sistema della linea di controllo.

PRECAUZIONI

- Solo per uso medico e professionale diagnostico *in vitro*. Non usare oltre la data di scadenza.
- Il test deve rimanere nella confezione sigillata fino all'uso.
- Tutti i campioni sono da considerarsi potenzialmente pericolosi e manipolati alla stregua di agenti infettivi.
- I test usati dovranno essere gettati secondo le legislazioni locali.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare incartato nella confezione sigillata a temperatura ambiente (2-30°C). Il test è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla confezione sigillata o sull'etichetta del contenitore chiuso. Il test deve rimanere nella confezione sigillata o nel contenitore chiuso fino all'uso. **NON CONGELARE.** Non usare oltre la data di scadenza

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Test delle urine

Il campione di urina deve essere raccolto in un contenitore asciutto e pulito. Si può usare urina raccolta in qualsiasi momento del giorno. I campioni di urina che mostrano precipitati visibili

dovranno essere centrifugati, filtrati o lasciati depositare per ottenere un surnatante chiaro da testare.

Conservazione campione

I campioni di urina possono essere conservati a 2-8°C per 48 ore prima del test. Per una conservazione prolungata, i campioni possono essere congelati e conservati sotto i -20°C. I campioni congelati dovranno essere scongelati e mescolati prima del test.

MATERIALI

- Supporti Test

Materiali forniti

- Foglietto illustrativo

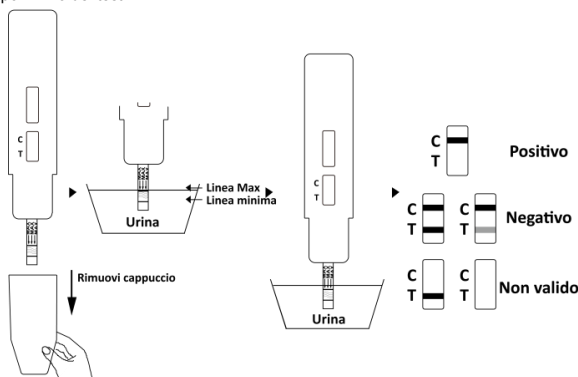
Materiali necessari ma non forniti

- Contenitore raccolta campione
- Timer

ISTRUZIONI PER L'USO

Portare il test, il campione di urina e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30°C) prima del test.

1. Rimuovere il test dalla confezione sigillata e usarlo entro un'ora.
2. Rimuovere il cappuccio.
3. Con la freccia puntata verso il campione di urina, immergere il supporto del test verticalmente nel campione di urina per almeno 10-15 secondi. **Immergere la striscia almeno fino al livello indicato dalle linee ondulate, ma non toccare il supporto in plastica.**
4. Riposizionare il cappuccio e posizionare il supporto del test su una superficie piana non assorbente.
5. Avviare il timer ed attendere la comparsa della/e linea/e colorata/e.
6. Il risultato dovrebbe essere letto a 5 minuti. I risultati possono rimanere stabili fino a un'ora dopo l'inizio del test.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

(Si prega di fare riferimento all'illustrazione sopra)

NEGATIVO: *Compaiono due linee. Una linea colorata dovrebbe essere nella zona di controllo (C) e una in quella del test (T). Un risultato negativo indica che la concentrazione di Cotinina è al di sotto del livello di individuazione (200 ng/mL).

***NOTA:** La sfumatura di colore nella zona del test (T) può variare, ma dovrà essere considerato negativo ogni volta che appare una linea colorata anche appena percettibile.

POSITIVO: Compare una linea nella zona di controllo (C). Non compare nessuna linea nella zona del test (T). Un risultato positivo indica che la concentrazione della Cotinina supera il livello di individuazione (200 ng/mL).

NULLO: non compare la linea di controllo. Un volume insufficiente di campione o tecniche procedurali errate sono le cause più probabili della mancata comparsa della linea di controllo. Rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo dispositivo. Se il problema persiste, interrompere subito l'uso del lotto e contattare il proprio distributore locale.

CONTROLLO QUALITÀ

Nel test è incluso un controllo procedurale. La linea che compare nella zona di controllo (C) è considerata un controllo procedurale interno. Conferma che è stato usato un volume sufficiente di campione, un'adeguata imbibizione della membrana ed una corretta tecnica procedurale.

Gli standard di controllo non sono forniti con il presente kit; tuttavia, si raccomanda di testare controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio per confermare la procedura del test e verificarne la corretta prestazione.

LIMITAZIONI

1. Il test rapido COT (Urine) fornisce solo un risultato analitico preliminare qualitativo. È necessario usare un metodo analitico secondario a conferma del risultato. Il metodo di conferma consigliato è la gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).^{1,2}
2. È possibile che si verifichino errori tecnici procedurali, così come che altre sostanze nel campione di urina interferiscano causando risultati errati.

3. Adulteranti, come candeggina e/o allume, nei campioni di urina possono produrre risultati erronei indipendentemente dal metodo analitico usato. Se si sospetta adulterazione, il test deve essere ripetuto con un altro campione di urina.

4. Un risultato positivo indica la presenza della droga o dei suoi metaboliti ma non indica il livello di intossicazione, la via di somministrazione o la concentrazione nell'urina.

5. Un risultato negativo non indica necessariamente che l'urina è priva di droga. Un risultato negativo può comparire quando la droga è presente ma al di sotto della soglia-limite del test.

6. Il test non fa distinzione tra droghe da abuso e alcuni farmaci.

VALORI ATTESI

Un risultato negativo indica che la concentrazione di Cotinina è al di sotto del livello di individuazione di 200 ng/mL. Un risultato positivo indica che la concentrazione della Cotinina è superiore al livello di 200 ng/mL. Il test rapido COT ha una sensibilità di 200ng/mL.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Accuratezza

È stato effettuato un confronto usando il test rapido COT (Urine) e GC/MS. I risultati sono nella tabella che segue:

Test rapido COT	Metodo	GC/MS		Risultati totali
	Risultati	Positivo	Negativo	
		Positivo	88	
	Negativo	3	155	158
Risultati totali		91	159	250
% Concordanza		96.7%	97.5%	97.2%

Sensibilità Analitica

Un campione di urina priva di droga è stato addizionato con Cotinina alle seguenti concentrazioni:

0 ng/mL, 100 ng/mL, 150 ng/mL, 200 ng/mL, 250 ng/mL, 300 ng/mL e 600 ng/mL. I risultati dimostrano un'accuratezza del > 99% a +50% sopra e 50% sotto la concentrazione di soglia-limite. I dati sono sintetizzati di seguito:

Concentrazione Cotinina (ng/mL)	Percentuale e soglia-limite	n	Risultato visivo	
			Negativo	Positivo
0	0	30	30	0
100	-50%	30	30	0
150	-25%	30	27	3
200	Cut-off	30	15	15
250	+25%	30	4	26
300	+50%	30	0	30
600	+300%	30	0	30

Specificità Analitica

La tabella che segue elenca i composti individuati come positivi nell'urina dal Test Rapido COT (Urine) a 5 minuti.

Composto	Concentrazione (ng/mL)
(-)-Cotinina	200
(-)-Nicotina	5,000

Precisione

È stato condotto uno studio in tre ospedali da operatori non professionisti usando tre lotti di prodotto diversi per dimostrare la precisione nello stesso test, tra test e tra operatori. È stato fornito un identico gruppo di campioni codificati contenenti, secondo la GC/MS, zero Cotinina, Cotinina al 25% sopra e sotto la soglia-limite e al 50% sopra e sotto 200 ng/ml. I risultati sono elencati di seguito:

Concentrazione Cotinina (ng/mL)	n per sito	Sito A		Sito B		Sito C	
		-	+	-	+	-	+
0	10	10	0	10	0	10	0
100	10	10	0	10	0	10	0
150	10	9	1	9	1	9	1
250	10	1	9	1	9	2	8
300	10	0	10	0	10	0	10

Effetto della Gravità Specifica Urinaria

Quindici (15) campioni di urina con range normali di gravità specifica massima e minima sono stati addizionati con 100 ng/mL e 300 ng/mL di Cotinina. Il Test Rapido COT (Urine) è stato testato in duplicato usando quindici urine prive di droghe e i campioni di urine addizionate. I risultati dimostrano che variare i range di gravità urinaria specifica non influisce sui risultati del test.

Effetto del pH urinario

Il pH di un gruppo di urine considerate negative è stato regolato ad un range da 5 a 9 su incrementi di 1 unità di pH e addizionato con Cotinina a 100 ng/ml e 300 ng/ml. Le urine addizionate e con pH regolato sono state testate con il Test Rapido COT (Urine) in duplicato. Il

risultato dimostra che variare i range di pH non interferisce con l'esecuzione del test.

Cross-Reattività










È stato condotto uno studio per determinare la cross-reattività del test con composti sia in urine prive di droghe che urine positive contenenti Cotinina. I seguenti composti non hanno mostrato cross-reattività quando testati con il Test Rapido COT (Urine) ad una concentrazione di 100 µg/mL.

Composti non cross-reattivi

4-Acetamidofenolo	4-Dimetilaminoantipirina	Lito carbonato	Fentermina
Acetone	Difenidramina	Loperamide	trans-2-Fenil
Acetofenetidina	5,5-Difenilidantoina	Maprotilina	ciclopropilamina
Acido Acetilsalicilico	Disopiramide	Meperidina	I-Fenilefrina
N-Acetilprocainamide	Dossilamina	Mefentermina	β-Fenilettilamina
Albumina	Ecgonina	Meprobamato	Fenilpropanolamina
Aminopirina	Ecgonina metilestere	Metadone	(d,l-norefedrina)
Amitriptilina	EDDP	d-Metamfetamina	(±) Fenilpropanolamina
Amobarbital	Efavirenz (Sustiva)	l- Metamfetamina	Prednisolone
Amoxapina	EMDP	Metaqualone	Prednisone
Amoxicillina	Efedrina	Metossifenamina	5β-Pregnane-3α, 17α, 21-triol
l-Amfetamina	l- Efedrina	(-) 3,4-Metilenediossi-	Procaina
Ampicillina	(±)-Epinefrina	amfetamina (MDA)	Promazina
Apomorfina	l- Epinefrina	(+) 3,4 Metilenediossi -	Prometazina
Acido l-Ascorbico	Eritromicina	metamfetamina	d,l-Propranololo
Aspartame	β-Estradiolo	(MDMA)	d-Propossifene
Atropina	Estrone-3-solfato	Metilfenidato	d-Pseudoefedrina
Acido Benzilico	Etanolo (Alcol etilico)	Metiprilone	Quinacrina
Acido Benzoico	Etil-p-aminobenzoato	Metaqualone	Chinidina
Benzoilecgonina	Etodolac	Metoprololo	Chinina
Benzetefamina	Famprofazone	Morfina solfato	Ranitidina
Bilirubina	Fenfluramina	Morfina -	Riboflavin
(±)-Bromfeniramina	Fenopropene	3-β-D-glucuronide	Acido Salicilico
Buspirone	Fentanyl	Acido Nalidissico	Secobarbital
Caffeina	Fluoxetina	Nalorfina	Serotonina
Cannabidiolo	Furosemide	Naloxone	(5-idrossitriptamina)
Cannabinolo	Acido Gentisico	Naltrexone	Cloruro di sodio
Cloral idrato	d (+) Glucosio	Metiprilone	Sulfametazine
Cloramfenicolo	Guaiacol gliceril etere	Metoprololo	Sulindac
Clordiazeposside	Guaiacol gliceril etere	Nimesulide	Temazepam
Clorochina	carbammato	Norcodeina	Tetraciclina
Clorotiazide	Emoglobina	Morfina solfato	Tetraidrocortisone,
(+)-Clorfeniramina	Idralazina	Acido α-Naftaleneacetico	3-acetato
(±)-Clorfeniramina	Idroclorotiazide	Noretindrone	Tetraidrozolina
Clorpromazina	Idrocodone	Normorfina	Tebaina
Clorprotissene	Idrocortisone	d-Norpropossifene	Teofillina
Colesterolo	Idromorfone	Noscapina	Tiamina
Cimetidina	p-Idrossiamfetamina	d,l-Octopamina	Tioridazina
Clomipramina	Acido o-Idrossipurico	Orfenadrina	(chlorpromazina)
Clonidina	p-Hldrossimetamfetamina	Acido Ossalico	l-Tiroxina
Cocaina	p-Idrossinorefedrina	Oxazepam	Tolbutamide
Codeina	Idrossizina	Acido Ossolinico	cis-Tramadolo
Cortisone	3-Idrossitiramina	Ossicodone	Trazodone
Creatinina	Ibuprofene	Ossimetazolina	Triamterene
Ciclobarbitale	Imipramina	Ossimorfone	Trifluoperazina
Ciclobenzaprina	Iproniazide	Papaverina	Trimetobenzamide
Deossicorticosterone	(-)-Isoproterenolo	Pemolina	Trimetoprim
(-) Deossiefedrina	Isossuprina	Penicillina-G	Trimipramina
R (-) Deprenyl	Kanamicina	Pentazocina	Triptamina
Destrometorfano	Ketamina	Pentobarbital	d,l-Triptofano
Diazepam	Ketoprofene	Perfenazina	Tiramina
Diclofenac	Labelalolo	Fenciclidina	d,l-Tirosina
Diciclomina	Levorfanolo	Fenelzina	Acido Urico
Diffunisal	Lidocaina	Feniramina	Verapamil
Digossina	Lindane	Fenobarbital	Zomepirac
	(esaclorocicloesane)	Fenotiazina	

Therapeutics. 10th Edition. McGraw Hill Medical Publishing, 2001; 208-209.

Indice dei simboli

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Utilizzare per		Non riutilizzare
	Conservare tra 2-30 °C		Numero di lotto		Catalogare #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata		Fabbricante		



SCREEN ITALIA S.r.l.
Via dell'Artigianato, 16
06089 - Torgiano - Perugia - Italia
www.screenitalia.it info@screenitalia.it

Numero: 145081401
In vigore dal: 2019-11-20

[BIBLIOGRAFIA]

- Baselt RC. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 6th Edition. Biomedical Publications, Foster City, CA. 2002; 744-747
- Hardman JG, Limbird LE. Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis for