

CEDIA™ Buprenorphine Assay

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF 10015658 (Indiko-Kit mit 3 x 17 ml)
100190 (Kit mit 3 x 17 ml)
100240 (Kit mit 65 ml)

Verwendungszweck

Der CEDIA™ Buprenorphine Assay ist ein homogener Enzymimmunoassay, mit dem sich das Vorliegen von Buprenorphin in menschlichem Urin mit einer Cutoff-Konzentration von 5 ng/ml qualitativ oder semiquantitativ bestimmen lässt. Der Assay bietet ein einfaches und schnelles Verfahren zum Nachweis von Buprenorphin in menschlichem Urin.

Der Assay liefert nur ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Um ein bestätigtes Analyseergebnis zu erhalten, muss eine spezifischere alternative chemische Methode angewendet werden. Die Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) ist das für diesen Zweck bevorzugte Verfahren. Bei jedem Drogentest sollten klinische und fachliche Bewertungen zur Anwendung kommen, insbesondere dann, wenn vorläufige Ergebnisse verwendet werden.

Zusammenfassung und Beschreibung des Tests

Buprenorphin ist ein semisynthetisches opioides Analgetikum, das aus Thebain, einem Bestandteil von Opium, gewonnen wird. Buprenorphin ähnelt strukturell Morphin, besitzt aber sowohl antagonistische als auch agonistische Eigenschaften.² Buprenorphin hat eine längere Wirkdauer als Morphin und kann sublingual als Analgetikum verabreicht werden. Subutex®, eine höher dosierte Buprenorphin-Formulierung, wird u. a. in Europa als Substitutionsbehandlung bei Opiatabhängigkeit verwendet.³⁻⁵ Die FDA hat die Verwendung von Subutex und Suboxone®, in denen Buprenorphin als aktiver Wirkstoff enthalten ist, kürzlich zur Behandlung von Opiatabhängigkeit in den USA genehmigt. Die antagonistische Wirksamkeit wurde als äquivalent zu Naltrexon berichtet. Subutex und Suboxone sind die ersten Betäubungsmittel, die gemäß dem US Drug Abuse Treatment Act (DATA) von 2003 zur Behandlung von Opiatabhängigkeit erhältlich sind und in den USA am Arbeitsort eines Mediziners verschrieben werden können.⁶ Es hat sich zudem gezeigt, dass Buprenorphin Missbrauchspotenzial hat und selbst zu Abhängigkeit führen kann. Darüber hinaus wurden mehrere Todesfälle als Folge einer Überdosis intravenös injizierten Buprenorphins in Verbindung mit anderen Psychopharmaka wie Benzodiazepinen verzeichnet.⁷ Die Metabolisierung von Buprenorphin erfolgt vorrangig durch N-Desalkylierung zu Norbuprenorphin und durch Konjugation zu Glucuronid-Buprenorphin und Glucuronid-Norbuprenorphin.⁸

Beim CEDIA Buprenorphine Assay kommt rekombinante DNA-Technologie (US-Patent-Nr. 4708929) zur Anwendung, mit der ein spezifisches homogenes Enzymimmunoassay-System hergestellt wird.⁹ Dieser Assay basiert auf dem bakteriellen Enzym β -Galactosidase, das gentechnisch in zwei inaktive Fragmente zerlegt wurde. Diese Fragmente verbinden sich spontan wieder zu einem vollständig aktiven Enzym, das bei der Durchführung des Assays ein Substrat spaltet und damit eine spektrophotometrisch messbare Farbänderung hervorruft.

Im Assay konkurriert der Analyt in der Probe mit einem eines der inaktiven Fragmente der β -Galactosidase konjugierten Analyten (Enzymdonor) um eine begrenzte Zahl von Antikörperbindungsstellen. Enthält die Probe den Analyten, bindet dieser an die Antikörper, wodurch die inaktiven Enzymfragmente frei bleiben und sich zum aktiven Enzym verbinden können. Wenn die Probe den Analyten nicht enthält, binden die Antikörper an den Analyten, der an das inaktive Fragment konjugiert ist, und hemmen die Rekombination der inaktiven β -Galactosidasefragmente, sodass kein aktives Enzym gebildet wird. Die Menge des gebildeten aktiven Enzyms und die daraus resultierende Änderung der Extinktion sind direkt proportional zur Menge des Analyten in der Probe.

Reagenzien

- EA-Rekonstitutionspuffer:** Puffersalze, 0,35 mg/l monoklonale Maus-Antikörper gegen Buprenorphin, Stabilisator und Konservierungsmittel.
- 1a EA-Reagenz:** 0,171 g/l Enzymakzeptor (mikrobiell), Puffersalze und Konservierungsmittel.
- 2 ED-Rekonstitutionspuffer:** Puffersalze, Stabilisatoren und Konservierungsmittel.
- 2a ED-Reagenz:** 25 μ g/l Enzymdonor (mikrobiell) konjugiert an Buprenorphin, 1,67 g/l Chlorphenolrot- β -D-Galactopyranosid, Stabilisatoren und Konservierungsmittel.

Zusätzlich erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien:

REF	Beschreibung des Kits
100241	CEDIA Buprenorphine S1 Calibrator (0 ng/ml)
100242	CEDIA Buprenorphine S2 Calibrator (5 ng/ml)
100243	CEDIA Buprenorphine S3 Calibrator (20 ng/ml)
100244	CEDIA Buprenorphine S4 Calibrator (50 ng/ml)
100245	CEDIA Buprenorphine S5 Calibrator (75 ng/ml)
100246	CEDIA Buprenorphine Low and High Controls:

⚠ Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

GEFAHR: Pulverreagenz enthält ≤ 56 Gew. % Rinderserumalbumin (BSA) und ≤ 2 Gew. % Natriumazid. Flüssigreagenz enthält $\leq 1,0$ % Rinderserum, $\leq 0,3$ % Natriumazid und $\leq 0,1$ % wirkstoffspezifische Antikörper (Maus).

H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

H334 – Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.

EUH032 – Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.

Einatmen von Staub/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. Bei unzureichender Belüftung Atemschutz tragen. Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser und Seife waschen. BEI EINATMEN: Bei Atembeschwerden an die frische Luft bringen und in einer Position ruhigstellen, die das Atmen erleichtert. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Inhalt/Behälter gemäß lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Vorschriften der Entsorgung zuführen.

Zubereitung und Lagerung der Reagenzien

Nachfolgend wird die Zubereitung der Lösungen für Hitachi-Analysegeräte beschrieben. Lesen Sie bei allen anderen Analysegeräten das Anwendungsblatt des jeweiligen Analysegeräts.

Das Kit erst unmittelbar vor der Zubereitung der Lösungen aus dem Kühlschrank (2 bis 8 °C) nehmen. Die Lösungen in der folgenden Reihenfolge zubereiten, um das Risiko einer Kontamination zu minimieren.

R2 Enzymdonor-Lösung: Fläschchen 2a (ED-Reagenz) mit einem der beigelegten Adapter mit Fläschchen 2 (ED-Rekonstitutionspuffer) verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material aus Fläschchen 2a in Fläschchen 2 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und entsorgen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (15 bis 25 °C) stehen lassen. Nochmals mischen. Das Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen sofort in das Reagenzienfach des Analysegerätes oder in den Kühlschrank stellen (bei 2 bis 8 °C) und vor der Verwendung 30 Minuten stehen lassen.

R1 Enzymakzeptor-Lösung: Fläschchen 1a (EA-Reagenz) mit einem der beigelegten Adapter mit Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material aus Fläschchen 1a in Fläschchen 1 übertragen wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 1a und Adapter von Fläschchen 1 abnehmen und entsorgen. Fläschchen 1 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (15 bis 25 °C) stehen lassen. Nochmals mischen. Das Datum der Rekonstitution auf dem Fläschchenetikett vermerken. Das Fläschchen sofort in das Reagenzienfach des Analysegerätes oder in den Kühlschrank stellen (bei 2 bis 8 °C) und vor der Verwendung 30 Minuten stehen lassen.

HINWEIS 1: Die Komponenten dieses Kits sind zum Gebrauch als Einheit vorgesehen. Komponenten verschiedener Chargen nicht mischen.

HINWEIS 2: Kreuzkontamination durch Verwechslung der Fläschchenstüpsel vermeiden. Die Lösung R2 (Enzymdonor) muss gelborange gefärbt sein. Ein rotes bzw. purpurrotes Reagenz ist kontaminiert und muss entsorgt werden.

HINWEIS 3: Die Lösungen R1 und R2 müssen vor Durchführung des Assays die Lagerungstemperatur im Reagenzienfach des Analysegerätes erreichen. Zusätzliche Informationen sind im Anwendungsblatt des jeweiligen Analysegeräts zu finden.

HINWEIS 4: Hitachi 911 und 917 Analysegeräte

Wenn das Analysegerät den Barcode nicht lesen kann, kann die Ziffernfolge auf dem Barcode-Etikett über die Tastatur eingegeben werden.

Lagerungsbedingungen

CEDIA Buprenorphine Reagenzien bei 2 bis 8 °C lagern. **NICHT EINFRIEREN.**

Die Stabilität der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf den Etiketten der Verpackung und der Fläschchen zu entnehmen.

Um die Stabilität des rekonstituierten EA-Reagenzes zu gewährleisten, muss es vor längerer kontinuierlicher Lichteinstrahlung geschützt werden.

Lösung R1: 60 Tage gekühlt im Analysegerät oder bei 2 bis 8 °C.

Lösung R2: 60 Tage gekühlt im Analysegerät oder bei 2 bis 8 °C.

Probennahme und -handhabung

Urinproben in Kunststoff- oder Glasgefäßen sammeln. Es wird empfohlen, frische Urinproben zu untersuchen. Die chemische Integrität der Urinprobe muss von der Entnahme bis zur Durchführung des Tests unbedingt gewahrt werden.

Proben, die bei Raumtemperatur aufbewahrt werden und bei denen der erste Test nicht innerhalb von 8 Tagen¹⁰ nach der Ankunft im Labor durchgeführt wird, sollten bei 2 bis 8 °C bis zu 30 Tage in einer sicheren Kühleinheit aufbewahrt werden.^{11,12} Für eine längere Lagerung vor der Analyse oder für die Probenaufbewahrung nach der Analyse können Urinproben bei -20 °C aufbewahrt werden.¹³ Studien haben gezeigt, dass Buprenorphin-Analyte im Urin bei -20 °C bis zu 85 Tage lang stabil sind.¹³

Labore, die nach den verbindlichen SAMHSA-Richtlinien arbeiten, sollten sich an die SAMHSA-Bestimmungen zur „Kurzzeitigen gekühlten Lagerung“ und zur „Langfristigen Lagerung“ halten.¹⁴

Zum Schutz der Probenintegrität sollte Schaumbildung sowie wiederholtes Einfrieren und Auftauen vermieden werden. Pipettierte Proben sollten möglichst frei von groben Verschmutzungen gehalten werden. Es wird empfohlen, sehr trübe Proben vor der Analyse zu zentrifugieren. Tiefgekühlte Proben sind vor der Analyse vollständig aufzutauen und gründlich zu vermischen. Eine Verfälschung von Urinproben kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Falls eine Verfälschung vermutet wird, sollte eine weitere Probe genommen und beide Proben an das Labor geschickt werden.

Alle Urinproben sind wie potenziell infektiöses Material zu behandeln.

Durchführung des Assays

Zur Durchführung des CEDIA Buprenorphine Assay sollten automatisierte klinische Analysegeräte verwendet werden, die funktional in der Lage sind, die Temperatur konstant zu halten, Proben zu pipettieren, Reagenzien zu mischen, die Geschwindigkeit der Enzymaktivitäten bei einer Absorption von 660 nm zu messen und die Reaktionszeiten einzuhalten. Spezifische Leistungsdaten zur Anwendung liegen bei der Microgenics Corporation vor, einem Unternehmen von Thermo Fisher Scientific. Informationen zu den Einstellungen der Anwendungsparameter Ihres Analysegeräts finden Sie auf der entsprechenden Anwendungsdiskette, dem Barcode-Übertragungsblatt oder dem gerätespezifischen Anwendungsblatt der Microgenics Corporation. Die Leistungsfähigkeit von Anwendungen, die nicht von der Microgenics Corporation stammen, wird nicht garantiert und muss vom Anwender festgelegt werden.

Kalibratoren und Kontrollen

Die ungefähre Konzentration von Buprenorphin für jeden der fünf Kalibratoren und die beiden im CEDIA Buprenorphine Assay verwendeten Kontrollen ist wie folgt:

- S1:** CEDIA Buprenorphine Calibrator (0 ng/ml)
- S2:** CEDIA Buprenorphine Calibrator (5 ng/ml)
- S3:** CEDIA Buprenorphine Calibrator (20 ng/ml)
- S4:** CEDIA Buprenorphine Calibrator (50 ng/ml)
- S5:** CEDIA Buprenorphine Calibrator (75 ng/ml)
- C1:** CEDIA Buprenorphine Low Control (3 ng/ml)
- C2:** CEDIA Buprenorphine High Control (7 ng/ml)

Kalibrierungshäufigkeit

Eine erneute Kalibrierung ist in den folgenden Situationen zu empfehlen:

- Nach einem Wechsel der Reagenzienflasche
- Nach einem Wechsel der Kalibratoren- oder Reagenzcharge
- Nach der Durchführung einer Geräterwartung
- Im Bedarfsfall nach den Qualitätskontrollverfahren

Nachfolgend finden Sie Empfehlungen zur Kalibrierungshäufigkeit für Hitachi Analysegeräte. Informationen zu anderen Analysegeräten finden Sie im Anwendungsblatt des jeweiligen Geräts.

Messbereich

Der CEDIA Buprenorphine Assay ist für den semiquantitativen Einsatz im Bereich zwischen 5 ng/ml, dem niedrigsten Kalibrator des Assays mit Buprenorphin, und dem Wert des Kalibrators S5 ausgelegt.

Die minimale nachweisbare Konzentration beim Buprenorphine Assay beträgt 1,25 ng/ml.

Proben außerhalb des Bereichs

Proben, die eine höhere Konzentration als der Kalibrator S5 aufweisen, können als größer als der Wert des hohen Kalibrators erfasst oder im Verhältnis ein Teil Probe mit einem Teil des negativen Kalibrators verdünnt und für Verdünnungen bis zu 1:100 erneut getestet werden.

Der beim erneuten Assay ermittelte Wert sollte wie folgt berechnet werden:
Istwert = (Verdünnungsfaktoren x verdünnter Wert) – Konzentration des negativen Kalibrators

Proben, die Werte unterhalb der Cutoff-Konzentration aufweisen, sollten als negativ erfasst werden.

Qualitätskontrolle

Jedes Labor sollte eigene Richtlinien für die Häufigkeit von Kontrollen festlegen.

Nach guter Laborpraxis werden mindestens zwei Stufen von Qualitätskontrollen (eine unter und eine über dem Cutoff des Assays) an jedem Tag getestet, an dem Patientenproben untersucht werden, und jedes Mal, wenn eine Kalibrierung durchgeführt wird. Überwachen Sie die Kontrollwerte und achten Sie auf Trends oder Verschiebungen. Wenn Trends oder Verschiebungen erkannt werden, oder die Kontroll Dosen nicht innerhalb des angegebenen Bereichs wiedergefunden werden, sind alle Betriebsparameter zu überprüfen. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst, um weitere Unterstützung und Empfehlungen für geeignetem Kontrollmaterial zu erhalten. Alle Qualitätskontrollen müssen in Übereinstimmung mit den örtlichen, Landes- und/oder Bundesvorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden.

HINWEIS: Bewerten Sie die Grenzwerte für Kontrollen nach einem Wechsel der Reagenzcharge neu.

Berechnung

Detaillierte Berechnungsinformationen finden Sie im entsprechenden Betriebshandbuch oder im Anwendungsprotokoll des jeweiligen Analysegeräts.

Einschränkungen

1. Substanzen oder Faktoren, die nicht in der Spezifitätsstudie untersucht wurden, können den Test beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.
2. Ein positives Ergebnis durch den CEDIA Buprenorphine Assay zeigt lediglich das Vorhandensein von Buprenorphin oder eines Kreuzreaktanten an und muss nicht unbedingt mit dem Ausmaß der physiologischen und psychologischen Auswirkungen korrelieren. Ein Assay-Ergebnis kann möglicherweise nicht zwischen therapeutischer Verwendung und Missbrauch von Buprenorphin unterscheiden.
3. Leistungsdaten für die Durchführung des CEDIA Buprenorphine Assay wurden nur anhand von menschlichem Urin und nicht anhand anderer Körperflüssigkeiten festgelegt.
4. Die Ergebnisse sollten mit Vorsicht interpretiert werden, da es viele andere Faktoren gibt, die die Ergebnisse eines Urintests beeinflussen können, z. B. Flüssigkeitsaufnahme oder andere biologische Faktoren.
5. Dieser CEDIA Buprenorphine Assay wurde für Analysegeräte validiert, die ein integriertes Waschen von Zellen verwenden. Wenn Ihr Analysegerät über kein integriertes Waschen von Zellen verfügt, wenden Sie sich an Ihren Thermo Fisher Scientific Ansprechpartner vor Ort.

Ergebnisse und erwartete Werte

Die veröffentlichten Daten können als Referenz für therapeutische und toxische Werte verwendet werden, bis ein Labor seine eigenen Bereiche festgelegt hat. Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor ermittelten Ergebnisse von diesen Werten.

Qualitative Ergebnisse

Der CEDIA Buprenorphine Assay-Cutoff-Kalibrator mit 5 ng Buprenorphin/ml dient als Referenz zur Unterscheidung zwischen positiven und negativen Proben. Proben mit demselben oder einem größeren beobachteten Extinktionswert (A) als dem des Cutoff-Kalibrators gelten als positiv. Umgekehrt gilt eine Probe mit einer beobachteten Extinktion, die kleiner ist als die des Cutoff-Kalibrators, als negativ. Zusätzliche Informationen sind im Anwendungsblatt des jeweiligen Analysegeräts zu finden.

Semiquantitative Ergebnisse

Die Verwendung aller CEDIA Buprenorphine Assay-Kalibratoren ermöglicht die Schätzung einer relativen Konzentration von Buprenorphin im Urin. Die ungefähre Konzentration von Buprenorphin in einer Probe kann durch den Vergleich der für die Probe beobachteten Extinktion mit der Standardkalibrierungskurve und durch Interpolation der geschätzten Konzentration ermittelt werden. Liegt die geschätzte Probenkonzentration über der des höchsten Kalibrators, kann die Probe mit dem negativen Kalibrator verdünnt und wie zuvor beschrieben erneut getestet werden. Die Ergebnisse sollten mit Vorsicht interpretiert werden, da es viele andere Faktoren, gibt, die die Ergebnisse eines Urintests beeinflussen können, z. B. Flüssigkeitsaufnahme oder andere biologische Faktoren. Der Assay kann im semiquantitativen Modus zur Schätzung von Verdünnungen für die GC/MS-Bestätigung oder für Qualitätskontrollzwecke durchgeführt werden.

Spezifische Leistungsdaten

Typische, mit dem Analysegerät Hitachi 717 ermittelte Leistungsdaten sind unten angegeben.¹¹ Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor erzielten Ergebnisse von diesen Werten. Weitere für das Analysegerät spezifische Leistungsdaten finden Sie im Anwendungsprotokoll des jeweiligen Analysegeräts.

Sensitivität

Die minimale nachweisbare Konzentration des CEDIA Buprenorphine Assay auf dem Hitachi 717 beträgt 1,25 ng/ml.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze (Durchschnitt + 3SD von 21 Buprenorphin-freien Urinproben) für den CEDIA Buprenorphine Assay beträgt 1,25 ng/ml.

Präzision

Präzisionsstudien, die unter Verwendung eines modifizierten NCCLS-Protokolls mit verpackten Reagenzien und Kontrollen auf dem Hitachi 717 durchgeführt wurden, führten zu den folgenden Ergebnissen in ng/ml.

	Präzision innerhalb des Durchlaufs			Präzision zwischen Durchläufen		
	Niedrig	Mittel	Hoch	Niedrig	Mittel	Hoch
n	120	120	120	120	120	120
\bar{x} (ng/ml)	4,4	6,8	36,5	4,4	6,8	36,5
SD (ng/ml)	0,3	0,3	1,0	0,2	0,3	1,4
% VK	5,7	3,9	2,6	5,0	3,8	4,0

Linearität

Eine gepoolte Urinprobe mit einer bekannten hohen Konzentration von Buprenorphin wurde in Schritten von 10 % (aufeinanderfolgende Verdünnungen von 1:10) seriell mit menschlichem Buprenorphin-freiem Urin verdünnt. Die Buprenorphinkonzentration für jede der resultierenden 10 Verdünnungen wurde bestimmt und die prozentuale Wiederfindungsrate wurde als Quotient des beobachteten zum erwarteten Wert berechnet. Die nachstehenden Ergebnisse zeigen, dass die beobachteten Buprenorphinkonzentrationen für seriell verdünnte Proben innerhalb von ±10 % der erwarteten Werte liegen. Beim Vergleich von beobachteten (y) und erwarteten (x) Werten mit Techniken für die Kleinste-Quadrate-Approximation unterstützen die beobachtete Regressionsgleichung (y=1,025x-0,021) und die Korrelation (r=0,9986) die Linearität des Assays mit nacheinander verdünnten Proben, die aus einem einzigen hochkonzentrierten Pool stammen.

Verdünnung (%)	Erwarteter Wert (ng/ml)	Festgestellter Wert (ng/ml)	Wiederfindung (%)
0	0,0	0,8	-
10	7,7	8,1	105,1
20	15,3	15,1	98,6
30	23,0	22,0	95,5
40	30,6	30,3	98,7
50	38,3	38,6	100,8
60	46,0	48,7	105,9
70	53,6	57,6	107,4
80	61,3	63,7	103,9
90	68,9	70,2	101,8
100	76,6	76,6	100,0

Cutoff-Charakterisierung

Eine gepoolte Probe menschlichen Urins ohne Buprenorphin wurde mit einer Stammlösung mit einer hohen Buprenorphinkonzentration versetzt, um zwei Sätze mit je 21 Proben herzustellen, einen Satz mit einer um 25 % höheren (6,25 ng/ml) und einen Satz mit einer um 25 % niedrigeren (3,75 ng/ml) Buprenorphinkonzentration als der Assay-Cutoff von 5 ng Buprenorphin/ml. Jeder Satz von 21 Aliquoten wurde mit dem CEDIA Buprenorphine Assay getestet. Die Cutoff-Charakterisierung wurde als akzeptabel erachtet, wenn die beobachtete Buprenorphinkonzentration für 95 % der 21 Proben aus jedem der beiden getesteten Sätze höher bzw. niedriger war als die beobachtete Konzentration für den 5 ng/ml-Cutoff-Kalibrator. Wie in der folgenden Tabelle dargestellt, war die beobachtete Buprenorphinkonzentration für alle Proben angemessen höher bzw. niedriger als die Konzentration von 5,4 ng Buprenorphin/ml, die für den 5 ng/ml-Cutoff-Kalibrator ermittelt wurde.

Probe	Niedrigkonzentriertes Aliquot	Hochkonzentriertes Aliquot
	3,75 ng/ml (-25 %)	6,25 ng/ml (+25 %)
Mittlere Dosis	3,7	6,6
SD	0,2	0,2
% VK	6,6	2,5
Cutoff-Dosis	5,4	5,4

Spezifität

Interferenz mit endogenen Substanzen

Die potenzielle Interferenz endogener physiologischer Substanzen bei der Wiederfindung von Buprenorphin mit dem CEDIA Buprenorphine Assay wurde durch Zugabe bekannter Mengen potenzieller Störsubstanzen zu Urinproben mit einer bekannten Buprenorphinkonzentration untersucht. Die Buprenorphinkonzentration für jede Probe (Substanz und Endkonzentration in der Tabelle unten angegeben) wurde bestimmt und die prozentuale Wiederfindung wurde als Quotient aus dem Wert der Probe mit Störsubstanz und dem Kontrollwert berechnet. Die nachstehenden Ergebnisse zeigen, dass die beobachteten Buprenorphinkonzentrationen für die Proben mit Störsubstanz innerhalb von ±10 % der Werte für die Kontrollproben liegen.

Störsubstanz	Endkonzentration	Kontrolldosis (ng/ml)	Dosis mit Störsubstanz (ng/ml)	% der Kontrolle
Aceton	1000 mg/dl	5,2	5,1	98,1
Ascorbat	1500 mg/dl	5,3	4,9	91,2
Kreatinin	500 mg/dl	5,5	5,6	101,8
Galactose	10 mg/dl	4,9	5,3	108,2
γ-Globulin*	500 mg/dl	5,5	5,2	93,4
Glucose	1500 mg/dl	5,3	4,9	93,0
Hämoglobin	300 mg/dl	5,6	5,7	101,2
NaCl	6000 mg/dl	5,7	5,7	100,0
Oxalsäure	100 mg/dl	5,6	5,8	103,0
HSA*	500 mg/dl	5,9	5,7	97,2
Harnstoff	2000 mg/dl	5,4	5,1	93,5
Riboflavin	7,5 mg/dl	5,6	5,1	91,7
Ethanol	1000 mg/dl	5,8	6,3	108,0

* γ-Globulin = Gammaglobulin; HSA = Humanserumalbumin

Buprenorphin-Abbauprodukte

Zu den untersuchten potenziell kreuzreaktiven Substanzen gehören Buprenorphin-3-β-D-Glucuronid, Norbuprenorphin und Norbuprenorphin-3-β-D-Glucuronid. Die potenzielle Kreuzreaktivität wurde durch Zugabe bekannter Mengen jedes Kreuzreaktants zu Buprenorphin-freien Urinproben bestimmt. Ein Metabolit galt als kreuzreaktiv mit nativem Buprenorphin, wenn die beobachtete Wiederfindung der mit dem Metaboliten versetzten Probe größer als 1 % der geschätzten Zielkonzentration war. Wie die Ergebnisse zeigen, weist Buprenorphin 3-β-D-Glucuronid bei der Untersuchung präparierter Proben mit dem CEDIA Buprenorphine Assay nahezu 100 % Kreuzreaktivität mit Buprenorphin auf, während Norbuprenorphin und sein konjugiertes Glucuronid keine Anzeichen einer signifikanten Kreuzreaktivität zeigten.

	Zielwert (ng/ml)	Festgestellter Wert (ng/ml)	% Kreuzreaktivität
BG	5	4,9	98
	20	19,3	97
Norbuprenorphin	1000	0,6	< 0,015
NG	1000	0,1	< 0,015

BG = Buprenorphin-3-β-D-Glucuronid;
NG = Norbuprenorphin-3-β-D-Glucuronid

Kreuzreaktivität mit pharmakologischen Substanzen

Die potenzielle Kreuzreaktivität durch Medikamente, die üblicherweise mit Buprenorphin verabreicht werden, wurde durch Hinzufügen einer Endkonzentration von 100.000 ng/ml jeder Substanz zu Buprenorphin-freiem Urin untersucht. Die beobachtete Differenz bei der Quantifizierung zwischen einer Kontrolle und der Probe mit dem hinzugefügten Medikament wurde anschließend zur Berechnung der Kreuzreaktivität verwendet. Alle untersuchten pharmakologischen Verbindungen sind in der folgenden Tabelle aufgeführt. Sie waren im CEDIA Buprenorphine Assay zu < 0,015 % kreuzreaktiv.

Verbindung	Zielkonzentration	Festgestellter Wert (ng/ml)	% Kreuzreaktivität
Codein	100.000	14,80*	0,01
Codein-6-Glucuronid	100.000	0,00	0,00
Dextromethorphan	100.000	1,20	0,00
Dihydrocodein	100.000	11,40*	0,01
EDDP	100.000	0,00	0,00
EMDP	100.000	0,00	0,00
Heroin	100.000	2,60	0,00
Hydrocodon	100.000	8,90*	0,01
Hydromorphon	100.000	4,70	0,00
Imipramin	100.000	0,00	0,00
LAAM	100.000	0,30	0,00
Levorphanol	100.000	2,60	0,00
Methadol	100.000	0,50	0,00
Alpha-Methadol	100.000	0,00	0,00
Levo-Alpha-Acetylmethadol	100.000	0,00	0,00
Levo-Alpha-Noracetylmethadol	100.000	0,00	0,00
Levo-Alpha-Dinoracetylmethadol	100.000	0,00	0,00
Meriperidin	100.000	2,30	0,00
Methadon	100.000	2,60	0,00
6-Monoacetylmorphin	100.000	3,80	0,00
Morphin	100.000	3,40	0,00
Morphin-3-Glucuronid	100.000	3,20	0,00
Morphin-6-Glucuronid	100.000	0,00	0,00
Nalorphin	100.000	86,70*	0,09
Naloxon	100.000	3,50	0,00
Naltrexon	100.000	6,70*	0,01
Noroxycodonein	100.000	1,80	0,00
Noroxymorphin	100.000	1,50	0,00
Norpropoxyphen	100.000	5,50*	0,01
Oxymorphon	100.000	1,40	0,00
Oxycodon	100.000	0,00	0,00

* Konzentrationen von 100.000 ng/ml oder mehr führen zu einer Wiederfindung über dem Cutoff.

Genauigkeit

Methodenvergleich – semiquantitativ

Die Beziehung zwischen Buprenorphinkonzentrationen, die mit den CEDIA Buprenorphine und Gaschromatographie-/Massenspektrometrie-Methoden getestet wurden, wurde mithilfe linearer Regressionstechniken für 96 Urinproben bewertet, die den dynamischen Bereich des Assays darstellen (von 1,25 bis 75,0 ng Buprenorphin/ml). Der Korrelationskoeffizient (r) von 0,988 sowie die Regressionsparameter für Deming und die kleinsten Quadrate, die in der folgenden Tabelle und der zugehörige Ziffer gezeigt sind, zeigen eine insgesamt ausgezeichnete, unverzerrte Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen des CEDIA Buprenorphine Assay (y) und des GC/MS-Assays (x).

	Deming	Kleinste Quadrate
n	96	96
Gleichung	$y = 0,993x + 0,10$	$y = 0,981x + 0,27$
S.E.E.	3,08	3,07
r	0,988	0,988

Methodenvergleich – qualitativ

Dieselben 96 Urinproben, die im vorherigen Abschnitt beschrieben wurden, wurden auch qualitativ mit einem Schwellenwert von 5 ng Buprenorphin/ml als der Cutoff untersucht, der zwischen negativen und positiven Testergebnissen unterscheidet. In dieser Analyse wurden alle Proben mit einer Buprenorphinkonzentration größer oder gleich 5 ng/ml (≥ 5 ng/ml) für beide Methoden als positiv definiert, während Proben mit einer Konzentration von 4,99 ng/ml oder niedriger (< 5 ng/ml) als negativ definiert wurden. Die Ergebnisse in Tabelle VII-9 zeigen eine ausgezeichnete Gesamtübereinstimmung von 99,0 % (95/96=98,95 %, Yates-korrigiert $\chi^2=89,17$, $p < 0,0001$) zwischen dem GC/MS- und dem CEDIA Buprenorphine Assay.

	GC/MS-positiv	GC/MS-negativ	
CEDIA-positiv	45	1	46
CEDIA-negativ	0	50	50
	45	51	96

Literaturhinweise

1. Hawks RL. Analytical methodology. In Hawks RL, Chiang CN, eds. Urine testing for drugs of abuse. NIDA Research Monograph. 1986;73:30-41.
2. Baselt, RC: Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 5th edition. Chemical Toxicology Institute, Forster City, CA, 2000; S. 103-105.
3. Cirimele V, Kintz P, Lohner S, Ludes B. Enzyme Immunoassay Validation for the Detection of Buprenorphine in Urine. J Anal Toxicol, 2003; 27:103-5.
4. Fischer G, Gombas W, Eder H, Jagsch R, Peternell A, Stuhlinger G, Pezawas L, Aschauer HN, Kasper S. Buprenorphine versus methadone maintenance for the treatment of opioid dependence. Addiction 1999; 94:1337-47.
5. Strain EC, Stoller K, Walsh SL, Bigelow GE. Effects of buprenorphine versus buprenorphine/naloxone tablets in non-dependent opioid abusers. Psychopharmacology (Berl) 2000 Mar;148(4):374-83.
6. Opioid drugs in maintenance and detoxification treatment of opiate addiction; addition of buprenorphine and buprenorphine combination to list of approved opioid treatment medications. Interim final rule. Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA), Department of Health and Human Services. Fed Regist 2003, May 22;68(99):27937-9.
7. Tracqui A, Kintz P, Ludes B. Buprenorphine-related deaths among drug addicts in France: a report on 20 fatalities. J Anal Toxicol 1998 22:430-4.
8. Kronstad, R./Selden, T./Josefsen, M. Analysis of buprenorphine, norbuprenorphine and their glucuronides in urine by liquid chromatography. J Anal Toxicol 2003; 27:464-70.
9. Henderson D, Friedman SB, Harris JD, et al., CEDIA, A new homogeneous immunoassay system. Clin. Chem. 1986;32(9):1637-1641.
10. Dixon, et al, Stability Study of Opioids and Benzodiazepines in Urine Sample by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. Journal of Analytical Science and Technology, (2015) 6:17
11. Daten liegen bei der Microgenics Corporation vor, einem Unternehmen von Thermo Fisher Scientific, 2003.
12. C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (April 2007)
13. McCance-Katz, et al, The In-Vitro Glucuronidation of Buprenorphine and Norbuprenorphine Determined by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry. Therapeutic Drug Monitoring, 28:245-251 (April 2006)
14. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Final Guidelines; Federal Register, Substance Abuse and Mental Health Administration (SAMHSA), (1994) 110 (June 9):11983

Glossar:

<http://www.thermofisher.com/symbols-glossary>



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Kundenbetreuung und
technischer Support in den USA:
1-800-232-3342



B-R-A-H-M-S GmbH
Neuendorfstrasse 25
16761 Hennigsdorf, Germany



Aktualisierungen der Packungsbeilage finden Sie unter:
www.thermofisher.com/diagnostics

Andere Länder:

Bitte wenden Sie sich an Ihren Thermo Fisher Scientific Ansprechpartner vor Ort.

10007988-14-DE
10/2019

thermo
scientific