

**IVD** Per uso diagnostico in vitro

Solo su prescrizione medica

**REF** 10015658 (kit Indiko 3 x 17 ml)  
100190 (kit da 3 x 17 ml)  
100240 (kit da 65 ml)

## Uso previsto

Il dosaggio CEDIA™ Buprenorphine Assay è un immunodosaggio enzimatico omogeneo per la determinazione qualitativa o semi-quantitativa della presenza di buprenorfina nell'urina umana a una concentrazione di cutoff di 5 ng/ml. Il dosaggio fornisce una procedura di screening analitico semplice e rapida per rilevare la buprenorfina nell'urina umana.

**Il dosaggio fornisce solo un risultato analitico preliminare. È necessario utilizzare un metodo chimico alternativo più specifico per ottenere un risultato analitico confermato. Il metodo di conferma preferenziale è la gascromatografia/spettrometria di massa (GC/MS).<sup>1</sup> Una valutazione clinica e professionale è fondamentale per qualsiasi risultato di test su droghe d'abuso, in particolare quando si utilizzano risultati preliminari.**

## Riepilogo e spiegazione del test

La buprenorfina è un analgesico oppiaceo semi-sintetico derivato dalla tebaina, un componente dell'oppio. La buprenorfina è strutturalmente simile alla morfina, ma è dotata di proprietà sia antagoniste che agoniste.<sup>2</sup> La buprenorfina ha una durata d'azione più lunga della morfina e può essere somministrata per via sublinguale come analgesico. Subutex®, una formulazione della buprenorfina a dose più alta, è largamente impiegata in Europa e altrove come trattamento sostitutivo per la dipendenza da oppiacei.<sup>3,6</sup> Recentemente, la FDA ha approvato l'uso di Subutex e di Suboxone®, contenenti buprenorfina come principio attivo, per il trattamento della dipendenza da oppiacei negli USA. La potenza antagonista è stata riportata come equivalente al naltrexone. Subutex e Suboxone sono i primi farmaci narcotici disponibili sotto l'egida dell'US Drug Abuse Treatment Act (DATA) del 2003 per il trattamento della dipendenza da oppiacei che possono essere prescritti ambulatorialmente negli USA.<sup>6</sup> È stato inoltre dimostrato che la buprenorfina presenta un potenziale di abuso e può essa stessa causare dipendenza. Sono stati inoltre riferiti alcuni decessi dovuti a overdose di buprenorfina iniettata per endovena unitamente ad altri farmaci psicotropi come le benzodiazepine.<sup>7</sup> La buprenorfina viene metabolizzata principalmente per N-dealchilazione formando norbuprenorfina e per coniugazione formando buprenorfina glucuronide e norbuprenorfina glucuronide.<sup>8</sup>

Il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay utilizza una tecnologia basata sul DNA ricombinante (brevetto USA 4708929) per produrre un sistema di immunodosaggio enzimatico omogeneo esclusivo.<sup>9</sup> Il dosaggio si basa sull'enzima batterico β-galattosidasi, che è stato costruito geneticamente in due frammenti inattivi. Questi frammenti si riassociano in modo spontaneo per formare enzimi completamente attivi che, nel formato del dosaggio, aderiscono a un substrato, generando una variazione cromatica che è possibile misurare tramite la spettrofotometria.

Nel dosaggio, l'analita nel campione compete con l'analita coniugato a un frammento inattivo (donatore enzimatico) di β-galattosidasi per un numero limitato di siti di legame anticorpale. Se nel campione è presente l'analita, si lega all'anticorpo, lasciando il frammento di enzima inattivo libero di formare l'enzima attivo. Se l'analita non è presente nel campione, l'anticorpo si lega all'analita coniugato del frammento inattivo, inibendo la riassociazione dei frammenti inattivi di β-galattosidasi, senza formazione di enzima attivo. La quantità di enzima attivo formata e la variazione di assorbanza risultante sono direttamente proporzionali alla quantità di analita presente nel campione.

## Reagenti

- Tampone di ricostituzione per EA:** sali tampone, anticorpo monoclonale di topo anti-buprenorfina a una concentrazione di 0,35 mg/l, stabilizzatore e conservante.
- 1a Reagente per EA:** accettore enzimatico (microbico) a una concentrazione di 0,171 g/l, sali tampone e conservante.
- Tampone di ricostituzione per ED:** sali tampone, stabilizzatori e conservante.
- 2a Reagente per ED:** donatore enzimatico (microbico) a una concentrazione di 25 µg/l coniugato a buprenorfina, rosso di clorofenolo-β-D-galattopiranoside a una concentrazione di 1,67 g/l, stabilizzatori e conservante.

## Materiali aggiuntivi necessari ma non forniti:

REF	Descrizione del kit
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 Control e High Control:

## ⚠️ Precauzioni e avvertenze

**PERICOLO:** il reagente in polvere contiene ≤ 56% p/p di albumina sierica bovina (BSA) e ≤ 2% p/p di sodio azide. Il reagente liquido contiene ≤ 1,0% di siero bovino, ≤ 0,3% di sodio azide e ≤ 0,1% di anticorpo specifico del farmaco (topo).

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

H334 - Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato.

EU032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici.

Non respirare polveri, nubi, vapori e spray. Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. Indossare guanti protettivi/Proteggere gli occhi/ il viso. In caso di ventilazione insufficiente utilizzare un apparecchio respiratorio. In caso di contatto con la pelle: lavare abbondantemente con acqua e sapone. IN CASO DI INALAZIONE: se la respirazione è difficile, trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. In caso di sintomi respiratori: contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico. Lavare gli indumenti contaminati prima di indossarli nuovamente. Smaltire il prodotto/recipiente nelle apposite aree in conformità alla regolamentazione locale/regionale/nazionale/internazionale.

## Preparazione e conservazione dei reagenti

Per la preparazione delle soluzioni per gli analizzatori Hitachi, consultare la sezione riportata di seguito. Per tutti gli altri analizzatori, fare riferimento al foglio applicativo specifico dell'analizzatore.

Rimuovere il kit dallo scomparto di conservazione refrigerata (2-8 °C) immediatamente prima di preparare le soluzioni. Preparare le soluzioni nel seguente ordine, in modo da ridurre al minimo l'eventuale contaminazione.

**Soluzione R2 di donatore enzimatico:** collegare il flacone 2a (reagente per ED) al flacone 2 (tampone di ricostituzione per ED) usando uno degli adattatori in dotazione. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 2a sia trasferito nel flacone 2. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 2a e l'adattatore dal flacone 2 e gettarli. Tappare il flacone 2 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25 °C). Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o riporlo in uno scomparto di conservazione refrigerata (2-8 °C) e lasciarlo riposare per 30 minuti prima dell'uso.

**Soluzione R1 di accettore enzimatico:** collegare il flacone 1a (reagente per EA) al flacone 1 (tampone di ricostituzione per EA) usando uno degli adattatori in dotazione. Mescolare capovolgendo delicatamente, assicurandosi che tutto il materiale liofilizzato del flacone 1a sia trasferito nel flacone 1. Evitare la formazione di schiuma. Staccare il flacone 1a e l'adattatore dal flacone 1 e gettarli. Tappare il flacone 1 e lasciarlo riposare per circa 5 minuti a temperatura ambiente (15-25 °C). Mescolare nuovamente. Annotare la data di ricostituzione sull'etichetta del flacone. Introdurre il flacone direttamente nello scomparto dei reagenti dell'analizzatore o riporlo in uno scomparto di conservazione refrigerata (2-8 °C) e lasciarlo riposare per 30 minuti prima dell'uso.

**NOTA 1:** i componenti forniti in questo kit sono destinati a essere utilizzati insieme come un'unità integrata. Non usare componenti di lotti diversi.

**NOTA 2:** per evitare la contaminazione crociata dei reagenti, abbinare sempre i tappi ai rispettivi flaconi. La soluzione R2 (donatore enzimatico) deve essere di colore giallo-arancione. Un colore da rosso a rosso-porpora indica la contaminazione del reagente, che va quindi eliminato.

**NOTA 3:** prima dell'esecuzione del dosaggio, le soluzioni R1 e R2 vanno portate alla temperatura di conservazione dello scomparto dei reagenti dell'analizzatore. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio applicativo relativo all'analizzatore in dotazione.

**NOTA 4: analizzatori Hitachi 911 e 917**

Se l'analizzatore non è in grado di leggere il codice a barre, la sequenza numerica sull'etichetta con codice a barre può essere immessa tramite la tastiera.

## Condizioni di conservazione

Conservare i reagenti CEDIA Buprenorphine a 2-8 °C. **NON CONGELARE.**

Per il periodo di stabilità dei componenti non aperti, vedere la data di scadenza sulla confezione o sulle etichette dei flaconi.

Per garantire la stabilità del reagente per EA ricostituito, proteggerlo dall'esposizione prolungata e continua alla luce intensa.

**Soluzione R1:** 60 giorni refrigerata nell'analizzatore oppure a 2-8 °C.

**Soluzione R2:** 60 giorni refrigerata nell'analizzatore oppure a 2-8 °C.

## Prelievo e trattamento dei campioni

Prelevare i campioni di urina in contenitori di plastica o vetro. Si consiglia di analizzare campioni di urina freschi. Prestare attenzione a salvaguardare l'integrità chimica del campione di urina dal momento del prelievo fino all'esecuzione dell'analisi.

I campioni mantenuti a temperatura ambiente che non vengono inizialmente analizzati entro 8 giorni<sup>10</sup> dall'arrivo in laboratorio devono essere sistemati in un'unità di refrigerazione sicura a una temperatura da 2 a 8 °C fino a un massimo di 30 giorni.<sup>11,12</sup> Per periodi di conservazione più lunghi prima dell'analisi o per la conservazione del campione dopo l'analisi, i campioni di urina possono essere conservati a -20 °C.<sup>13</sup> Gli studi hanno dimostrato che gli analiti della buprenorfina nell'urina sono stabili a -20 °C fino a un massimo di 85 giorni.<sup>13</sup>

I laboratori che seguono le linee guida obbligatorie SAMHSA devono fare riferimento ai requisiti SAMHSA "Short-Term Refrigerated Storage" (Conservazione refrigerata a breve termine) e "Long-Term Storage" (Conservazione a lungo termine).<sup>14</sup>

Per proteggere l'integrità del campione, non indurre la formazione di schiuma ed evitare congelamenti e scongelamenti ripetuti. Cercare di ottenere campioni pipettati senza detriti di grandi dimensioni. Si raccomanda di centrifugare i campioni notevolmente torbidi prima dell'analisi. I campioni congelati devono essere scongelati e miscelati prima dell'analisi. L'adulterazione del campione di urina può portare a risultati errati. Se si sospetta un'adulterazione del campione, prelevarne un altro e inoltrare entrambi i campioni al laboratorio per l'analisi.

**Maneggiare tutti i campioni di urina come materiale potenzialmente infettivo.**

### Procedura di dosaggio

Il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay è destinato all'uso su analizzatori clinici automatizzati in grado di mantenere una temperatura costante e realizzare pipettaggio, miscelazione dei reagenti, misurazione della velocità di reazione enzimatica con un'assorbanza di 660 nm; per eseguire questo dosaggio, è possibile misurare il tempo di reazione. I dati specifici sulle prestazioni delle applicazioni sono in archivio presso Microgenics Corporation, parte di Thermo Fisher Scientific. Per le impostazioni dei parametri dell'applicazione sull'analizzatore, fare riferimento al dischetto dell'applicazione applicabile, al foglio di trasferimento con codice a barre o alla scheda applicativa specifica dello strumento disponibile presso Microgenics Corporation. Le prestazioni delle applicazioni non ottenute da Microgenics Corporation non sono garantite e devono essere definite dall'utente.

### Calibratori e controlli

La concentrazione approssimativa di buprenorfina di ciascuno dei cinque calibratori e dei due controlli utilizzati nel dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay è la seguente:

- 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)

### Frequenza di calibrazione

#### Si raccomanda di ripetere la calibrazione:

- Dopo ogni cambio del flacone di reagente
- Dopo ogni cambio del lotto del calibratore o del reagente
- Dopo operazioni di manutenzione dello strumento
- In base a quanto previsto dalle procedure di controllo di qualità

Per le raccomandazioni sulla frequenza di calibrazione per gli analizzatori Hitachi, vedere di seguito. Per altri analizzatori, fare riferimento al foglio applicativo specifico dello strumento.

### Intervallo refertabile

Il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay è progettato per l'uso semi-quantitativo nell'intervallo compreso tra 5 ng/ml, il calibratore più basso del dosaggio contenente buprenorfina, e il valore del calibratore S5.

La concentrazione minima rilevabile con il dosaggio per buprenorfina è 1,25 ng/ml.

### Campioni fuori intervallo

I campioni con una concentrazione superiore al calibratore S5 possono essere riportati come superiori al valore del calibratore più alto, oppure una parte del campione può essere diluita con una parte del calibratore negativo e analizzata nuovamente per diluizioni fino a 1:100.

Il valore ottenuto nel dosaggio successivo deve essere derivato come segue:

Valore effettivo = (fattori di diluizione x valore diluito) - concentrazione del calibratore negativo

I campioni con valori inferiori alla concentrazione di cutoff devono essere riportati come negativi.

### Controllo qualità

Ogni laboratorio deve determinare la propria frequenza dei controlli.

Le buone pratiche di laboratorio indicano che devono essere svolti almeno due livelli di controlli qualità (uno al di sotto e uno al di sopra del cutoff del dosaggio) ogni giorno in cui vengono analizzati campioni dei pazienti e ogni volta che viene eseguita una calibrazione. Monitorare i valori dei controlli, verificando eventuali trend o variazioni. Se vengono rilevati trend o variazioni, o se le dosi dei controlli non rientrano nell'intervallo specificato, rivedere tutti i parametri operativi. Contattare l'assistenza tecnica per i clienti per ulteriore supporto e consigli sui materiali di controllo adeguati. Tutti i requisiti di controllo della qualità devono essere soddisfatti in conformità alle normative locali, nazionali e/o federali o ai requisiti per l'accreditamento.

**NOTA:** si raccomanda di rivalutare i target e i range di controllo dopo un cambio di lotto di reagenti.

### Calcolo

Per informazioni dettagliate sui calcoli, fare riferimento al manuale di istruzioni o al protocollo di applicazione specifico dell'analizzatore.

### Limiti

1. È possibile che altre sostanze o fattori diversi da quelli presi in esame nello studio di specificità possano interferire con il test e generare falsi risultati.
2. Un risultato positivo con il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay indica solo la presenza di buprenorfina o reagenti crociati e non è necessariamente correlato all'entità degli effetti fisiologici e psicologici. Il risultato del dosaggio potrebbe non consentire di distinguere tra uso terapeutico e abuso di buprenorfina.
3. Le caratteristiche delle prestazioni del dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay non sono state stabilite con fluidi corporei diversi dall'urina umana.
4. Prestare attenzione nella refertazione dei risultati, poiché vi sono molti fattori, come l'assunzione di liquidi e altri fattori biologici, in grado di influenzare il risultato di un esame delle urine.
5. Il presente dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay è stato convalidato su analizzatori che utilizzano un sistema di lavaggio cellulare integrato. Se l'analizzatore in uso non dispone di un sistema di lavaggio cellulare integrato, contattare il rappresentante locale di Thermo Fisher Scientific.

### Risultati e valori previsti

I dati pubblicati possono essere utilizzati come riferimento per i valori terapeutici e tossici finché il laboratorio non stabilisce i propri intervalli. I risultati ottenuti nel proprio laboratorio potrebbero differire da questi valori.

#### Risultati qualitativi

Il calibratore cutoff del dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay, contenente 5 ng di buprenorfina/ml, viene utilizzato come riferimento per la distinzione tra campioni positivi e negativi. Un campione in cui si osserva un valore di assorbanza (A) uguale o superiore al valore ottenuto con il calibratore cutoff è considerato positivo. Al contrario, un campione in cui si osserva un'assorbanza inferiore al calibratore cutoff è considerato negativo. Per ulteriori informazioni, consultare il foglio applicativo relativo all'analizzatore in dotazione.

#### Risultati semi-quantitativi

L'uso di tutti i calibratori del dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay consente di stimare una concentrazione relativa di buprenorfina nelle urine. La concentrazione approssimativa di buprenorfina in un campione può essere ottenuta confrontando l'assorbanza del campione osservata, confrontandola con la curva di calibrazione standard e interpolando la concentrazione stimata. Quando la concentrazione stimata del campione è superiore al calibratore massimo, il campione può essere diluito con il calibratore negativo e analizzato nuovamente come descritto in precedenza. Prestare attenzione nella refertazione dei risultati, poiché vi sono molti fattori, come l'assunzione di liquidi e altri fattori biologici, in grado di influenzare il risultato di un esame delle urine. Il dosaggio può essere eseguito in modalità semi-quantitativa per stimare le diluizioni per la conferma con GC/MS o a scopo di controllo qualità.

### Caratteristiche specifiche delle prestazioni

Di seguito, sono riportati i risultati delle prestazioni tipici ottenuti con l'analizzatore Hitachi 717.<sup>11</sup> I risultati ottenuti nel proprio laboratorio potrebbero differire da questi valori. Per ulteriori dati sulle prestazioni specifici dell'analizzatore, fare riferimento al protocollo di applicazione specifico dell'analizzatore.

#### Sensibilità

La concentrazione minima rilevabile del dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay sull'analizzatore Hitachi 717 è 1,25 ng/ml.

#### Limiti di rilevamento

Il limite di rilevamento (media + 3SD di 21 campioni di urina privi di buprenorfina) del dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay è di 1,25 ng/ml.

#### Precisione

Studi di precisione condotti utilizzando un protocollo NCCLS modificato con reagenti confezionati e controlli su Hitachi 717 hanno avuto i seguenti risultati in ng/ml.

	Precisione durante l'esecuzione			Precisione tra le esecuzioni		
	Bassa	Media	Alta	Bassa	Media	Alta
<b>n</b>	120	120	120	120	120	120
<b><math>\bar{x}</math> (ng/ml)</b>	4,4	6,8	36,5	4,4	6,8	36,5
<b>SD (ng/ml)</b>	0,3	0,3	1,0	0,2	0,3	1,4
<b>CV (%)</b>	5,7	3,9	2,6	5,0	3,8	4,0

#### Linearità

Un pool di urina contenente un'elevata concentrazione di buprenorfina nota è stato diluito in serie con incrementi del 10% (diluizioni successive 1:10) con un pool di urina umana privo di buprenorfina. È stata determinata la concentrazione di buprenorfina di ciascuna delle 10 diluizioni risultanti e il recupero percentuale è stato calcolato come quoziente tra il valore osservato e quello atteso. I risultati riportati di seguito dimostrano che le concentrazioni di buprenorfina osservate dei campioni diluiti in serie si trovano entro il  $\pm 10\%$  rispetto ai valori attesi. Quando si confrontano i valori osservati (y) e attesi (x) utilizzando tecniche di adattamento dei minimi quadrati, l'equazione di regressione ( $y=1,025x-0,021$ ) e la correlazione ( $r=0,9986$ ) osservate supportano la linearità del dosaggio con campioni diluiti in successione provenienti da un unico pool con concentrazione elevata.

Diluizione (%)	Valore atteso (ng/ml)	Valore osservato (ng/ml)	Recupero (%)
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

#### Caratterizzazione del cutoff

Un pool di urina umana privo di buprenorfina è stato arricchito con una soluzione madre avente un'elevata concentrazione di buprenorfina per produrre due insiemi di 21 campioni ciascuno: un insieme con una concentrazione di buprenorfina maggiore del 25% (6,25 ng/ml) e l'altro con una concentrazione minore del 25% (3,75 ng/ml) rispetto al cutoff del dosaggio di 5 ng di buprenorfina/ml. Ciascuna serie di 21 aliquote è stata analizzata usando il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay. La caratterizzazione del cutoff è stata ritenuta accettabile se la concentrazione di buprenorfina osservata del 95% dei 21 campioni di ciascuno dei due insiemi analizzati era maggiore o minore della concentrazione osservata del calibratore cutoff da 5 ng/ml. Come mostrato nella tabella seguente, la concentrazione di buprenorfina osservata di tutti i campioni era opportunamente maggiore o minore della concentrazione di 5,4 ng di buprenorfina/ml osservata del calibratore cutoff da 5 ng/ml.

Campione	Aliquota bassa	Aliquota alta
	3,75 ng/ml (-25%)	6,25 ng/ml (+25%)
Dose media	3,7	6,6
SD	0,2	0,2
C.V. (%)	6,6	2,5
Dose cutoff	5,4	5,4

#### Specificità

##### Interferenza con sostanze endogene

La potenziale interferenza delle sostanze fisiologiche endogene al recupero della buprenorfina utilizzando il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay è stata valutata aggiungendo quantità note di sostanze potenzialmente interferenti a campioni di urina aventi una concentrazione nota di buprenorfina. È stata determinata la concentrazione di buprenorfina di ciascun campione (sostanza e concentrazione finale indicate nella tabella di seguito) e il recupero percentuale è stato calcolato come il quoziente tra il valore del controllo addizionato e il valore di controllo. I risultati riportati di seguito dimostrano che le concentrazioni di buprenorfina osservate dei campioni addizionati si trovano entro il  $\pm 10\%$  dei valori dei campioni di controllo.

Sostanza interferente	Concentrazione finale	Dose di controllo (ng/ml)	Dose aggiunta (ng/ml)	% di controllo
Acetone	1.000 mg/dl	5,2	5,1	98,1
Ascorbato	1.500 mg/dl	5,3	4,9	91,2
Creatinina	500 mg/dl	5,5	5,6	101,8
Galattosio	10 g/dl	4,9	5,3	108,2
$\gamma$ -globulina*	500 mg/dl	5,5	5,2	93,4
Glucosio	1.500 mg/dl	5,3	4,9	93,0
Emoglobina	300 mg/dl	5,6	5,7	101,2
NaCl	6.000 mg/dl	5,7	5,7	100,0
Acido ossalico	100 mg/dl	5,6	5,8	103,0
HSA*	500 mg/dl	5,9	5,7	97,2
Urea	2.000 mg/dl	5,4	5,1	93,5
Riboflavina	7,5 mg/dl	5,6	5,1	91,7
Etanolo	1.000 mg/dl	5,8	6,3	108,0

\*  $\gamma$  - Globulina = Gamma-globulina; HSA = Albumina sierica umana

#### Prodotti di degradazione della buprenorfina

I potenziali reagenti crociati valutati comprendono buprenorfina-3- $\beta$ -D glucuronide, norbuprenorfina e norbuprenorfina-3- $\beta$ -D glucuronide. La potenziale reattività crociata è stata determinata aggiungendo quantità note di ciascun reagente crociato a campioni di urina privi di buprenorfina. È stato stabilito che un metabolita presentava reattività crociata con la buprenorfina nativa se il recupero osservato per il campione addizionato con il metabolita risultava superiore all'1% della concentrazione target stimata. Come indicato dai risultati forniti, quando i campioni preparati vengono analizzati utilizzando il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay, la buprenorfina 3- $\beta$ -D-glucuronide presenta una reattività crociata quasi del 100% con la buprenorfina, mentre la norbuprenorfina e il rispettivo glucuronide coniugato non mostrano alcun segno significativo di reattività crociata.

	Target (ng/ml)	Valore osservato (ng/ml)	Reattività crociata (%)
BG	5	4,9	98
	20	19,3	97
Norbuprenorfina	1.000	0,6	< 0,015
NG	1.000	0,1	< 0,015

BG = Buprenorfina-3- $\beta$ -D glucuronide;  
NG = Norbuprenorfina-3- $\beta$ -D glucuronide

#### Reattività crociata con sostanze farmacologiche

La potenziale reattività crociata posta dai farmaci comunemente somministrati insieme alla buprenorfina è stata valutata aggiungendo una concentrazione finale di 100.000 ng/ml di ciascuna sostanza a urina priva di buprenorfina. La differenza osservata nella quantificazione tra un controllo e il campione con il farmaco aggiunto è stata poi usata per calcolare la reattività crociata. Tutti i composti farmacologici valutati sono inclusi nella seguente tabella e avevano una reattività crociata < 0,015% nel dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay.

Composto	Concentrazione target	Valore osservato (ng/ml)	Reattività crociata (%)
Codeina	100.000	14,80*	0,01
Codeina 6-glucuronide	100.000	0,00	0,00
Destrometorfano	100.000	1,20	0,00
Diidrocodeina	100.000	11,40*	0,01
EDDP	100.000	0,00	0,00
EMDP	100.000	0,00	0,00
Eroina	100.000	2,60	0,00
Idrocodone	100.000	8,90*	0,01
Idromorfone	100.000	4,70	0,00
Imipramina	100.000	0,00	0,00
LAAM	100.000	0,30	0,00
Levorfanolo	100.000	2,60	0,00
Metadolo	100.000	0,50	0,00
alfametadolo	100.000	0,00	0,00
levo-alfa-acetil-metadolo	100.000	0,00	0,00
levo-alfa-noracetil-metadolo	100.000	0,00	0,00
levo-alfa-dinoracetil-metadolo	100.000	0,00	0,00
Meriperidina	100.000	2,30	0,00
Metadone	100.000	2,60	0,00
6-monoacetilmorfina	100.000	3,80	0,00
Morfina	100.000	3,40	0,00
Morfina 3-glucuronide	100.000	3,20	0,00
Morfina 6-glucuronide	100.000	0,00	0,00
Nalorfina	100.000	86,70*	0,09
Naloxone	100.000	3,50	0,00
Naltrexone	100.000	6,70*	0,01
Norossicodina	100.000	1,80	0,00
Norossimorfina	100.000	1,50	0,00
Norpropossifene	100.000	5,50*	0,01
Ossimorfone	100.000	1,40	0,00
Ossicodone	100.000	0,00	0,00

\* Le concentrazioni di 100.000 ng/ml o superiori hanno come conseguenza un recupero al di sopra del cutoff.

## Accuratezza

### Confronto dei metodi – Semi-quantitativo

La relazione tra le concentrazioni di buprenorfina analizzate utilizzando sia il metodo CEDIA per la buprenorfina che il metodo gascromatografia/spettrometria di massa è stata valutata utilizzando tecniche di regressione lineare per 96 campioni di urina che rappresentano l'intervallo dinamico del dosaggio (da 1,25 a 75,0 ng di buprenorfina/ml). Il coefficiente di correlazione (r) di 0,988, nonché i parametri di Deming e di regressione dei minimi quadrati, mostrati nella tabella seguente e nella figura associata, dimostrano, in generale, un accordo eccellente e non affetto da errori sistematici tra i risultati del dosaggio CEDIA per la buprenorfina (y) e della GC/MS (x).

	Deming	Minimi quadrati
n	96	96
Equazione	$y = 0,993x + 0,10$	$y = 0,981x + 0,27$
S.E.E.	3,08	3,07
r	0,988	0,988

### Confronto dei metodi – Qualitativo

Gli stessi 96 campioni di urina descritti nella sezione precedente sono stati inoltre valutati qualitativamente utilizzando una soglia di 5 ng di buprenorfina/ml come cutoff discriminante un risultato dell'analisi negativo o positivo. In questa analisi, tutti i campioni aventi una concentrazione di buprenorfina maggiore o uguale a 5 ng/ml ( $\geq 5$  ng/ml) sono stati definiti positivi per entrambi i metodi, mentre i campioni con concentrazioni di 4,99 ng/ml o inferiori ( $< 5$  ng/ml) sono stati definiti negativi. I risultati mostrati nella Tabella VII-9 dimostrano un'eccellente concordanza complessiva del 99,0% (95/96=98,95% con correzione di Yates  $\chi^2=89,17$ ,  $p < 0,0001$ ) tra la GC/MS e il dosaggio CEDIA Buprenorphine Assay.

	Positivo a GC/MS	Negativo a GC/MS	
Positivo a CEDIA	45	1	46
Negativo a CEDIA	0	50	50
	45	51	96

## Bibliografia

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; pp 103-105.
3. Crimele 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. Data on file at Microgenics Corporation, a part of 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

## Glossario:

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



Microgenics Corporation  
46500 Kato Road  
Fremont, CA 94538 USA  
Assistenza clienti e  
tecnica USA:  
+1-800-232-3342



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



Per aggiornamenti del foglietto illustrativo, visitare il sito:  
[www.thermofisher.com/diagnostics](http://www.thermofisher.com/diagnostics)

## Altri paesi:

Rivolgersi al rappresentante Thermo Fisher Scientific locale.