

IVD In-vitro-Diagnostikum

Rx Only

REF 10020849 (Kit mit 3 x 17 ml)
10020850 (Kit mit 65 ml)

Verwendungszweck

Der CEDIA® Buprenorphin II-Assay ist ein homogener Enzymimmunoassay, mit dem sich das Vorhandensein von Buprenorphin und seinen Metaboliten in menschlichem Urin mit einer Cutoff-Konzentration von 10 ng/ml qualitativ und/oder semiquantitativ bestimmen lässt. Der Assay dient der Verwendung in Laboren und ermöglicht ein einfaches und schnelles analytisches Screening-Verfahren, um Buprenorphin und seine Metaboliten im menschlichen Urin zu detektieren. Der Assay ist für die Verwendung mit einer Reihe von klinisch-chemischen Analysegeräten konzipiert.

Der semiquantitative Modus ermöglicht die Bestimmung einer angemessenen Probenverdünnung im Labor mittels eines Bestätigungsverfahrens wie der Flüssigkeitschromatographie oder der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Zudem können dadurch Verfahren zur Qualitätskontrolle etabliert werden.

Der Assay liefert nur ein vorläufiges analytisches Testergebnis. Um ein bestätigtes Analyseergebnis zu erhalten, muss eine spezifischere alternative chemische Methode angewendet werden. Gaschromatografie/Massenspektrometrie (GC/MS) und Flüssigchromatografie/Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) sind die bevorzugten Methoden zur Bestätigung.¹

Alle im Rahmen von Drogenmissbrauchsfällen erhaltenen Testergebnisse sollten – insbesondere beim Vorliegen eines vorläufigen Ergebnisses – nach klinischem und professionellem Ermessen behandelt werden. *In-vitro-Diagnostikum.*

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Buprenorphin ist ein semisynthetisches opioides Analgetikum, das aus Thebain, einem Nebenbestandteil von Opium, gewonnen wird. Buprenorphin gleicht Morphin in seiner Struktur. Es ist ein partieller Agonist-Rezeptor-Modulator.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, zur Behandlung von Opiatabhängigkeit in den USA genehmigt. 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 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 zur Bildung von Norbuprenorphin und durch Konjugation, um Buprenorphinglucuronid und Norbuprenorphinglucuronid zu bilden.⁸

Beim CEDIA Buprenorphin II-Assay kommt rekombinante DNA-Technologie zur Anwendung, um ein spezifisches homogenes Enzymimmunoassay-System herzustellen.⁹ Der Assay basiert auf dem bakteriellen β -Galaktosidase-Enzym (*Escherichia coli*), 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 bei 570 nm messbare Farbänderung hervorruft.

In diesem Assay konkurriert der Analyt in der Probe mit dem an das inaktive Fragment des β -Galaktosidase-Enzyms konjugierten Analyten (Enzymspender) um Antikörperbindungsstellen. Enthält die Probe den Analyten, bindet dieser an die Antikörper, wodurch das inaktive Enzymfragment frei bleibt und sich zum aktiven Enzym verbinden kann. Wenn die Probe den Analyten nicht enthält, binden die Antikörper an den an das inaktive Fragment konjugierten Analyten, wodurch die Rekombination der inaktiven β -Galaktosidasefragmente verhindert und kein aktives Enzym gebildet wird. Die Menge des gebildeten aktiven Enzyms und die daraus resultierende Änderung der Extinktion sind proportional zur Menge des Analyten in der Probe.

Reagenzien

- 1 EA-Rekonstitutionspuffer**
Enthält Puffersalze, monoklonale Anti-Buprenorphin-Derivat-Antikörper von Mäusen (0,8 – 1,0 mg/l), Stabilisatoren und Konservierungsmittel.
- 1a EA-Reagens**
Enthält 0,171 g/l Enzymakzeptor, Puffersalze und Konservierungsmittel.
- 2 ED-Rekonstitutionspuffer**
Enthält Puffersalze, Stabilisatoren und Konservierungsmittel
- 2a ED-Reagens**
Enthält 0,175 mg/l an Buprenorphinderivat konjugierten Enzymspender, 1,67 g/l Chlorphenolrot- β -D-Galactopyranosid, Stabilisatoren, Detergenzien und Konservierungsmittel.

Zusätzlich erforderliches Material (separat erhältlich):

REF	Beschreibung des Kits
10021390	CEDIA Negativ-Kalibrator II (1 x 7,5 ml)
10020799	CEDIA Buprenorphin II-Kalibrator 10 ng/ml (1 x 5 ml)
10020800	CEDIA Buprenorphin II-Kalibrator 20 ng/ml (1 x 5 ml)
10020801	CEDIA Buprenorphin II-Kalibrator 50 ng/ml (1 x 5 ml)
10020802	CEDIA Buprenorphin II-Kalibrator 100 ng/ml (1 x 5 ml)
10020804	CEDIA Buprenorphin II niedrige (7,5 ng/ml) und hohe (12,5 ng/ml) Kontrollen (jeweils 2 x 5 ml)

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

GEFAHR: Pulverreagens enthält ≤ 55 Gew. % Rinderserumalbuminfragmente (BSA) und ≤ 1 Gew. % Natriumazid. Flüssigreagens enthält $\leq 0,5$ % Rinderserum, $\leq 0,2$ % Natriumazid und $\leq 0,1$ % wirtstoffspezifische Antikörper (Maus).

Die Reagenzien sind gesundheitsschädlich, wenn sie geschluckt werden.

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 Nebel oder Dampf 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.

Falls Material versehentlich verschüttet wird, ist es gemäß der Standardvorgehensweise des Labors (Standard Operating Procedure, SOP) und unter Einhaltung der Vorschriften auf kommunaler, Landes- und Bundesebene zu entfernen und zu entsorgen.

Falls die Verpackung bei Erhalt beschädigt ist, Kontakt mit dem technischen Support aufnehmen (siehe letzte Seite dieser Packungsbeilage).

Vorbereitung und Lagerung der Reagenzien

Nachfolgend wird die Zubereitung der Lösungen beschrieben. Das Kit erst unmittelbar vor der Zubereitung der Lösungen aus dem Kühlschrank (2 – 8 °C) nehmen.

Die Lösungen in der folgenden Reihenfolge zubereiten, um das Risiko einer Kontamination zu minimieren.

R2 – Enzymspender-Lösung

Fläschchen 2a (ED-Reagens) 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 transmittiert wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 2a und Adapter von Fläschchen 2 abnehmen und entsorgen. Fläschchen 2 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 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 – 8 °C) und vor der Verwendung 30 Minuten stehen lassen.

R1 – Enzym-Akzeptor-Lösung

Fläschchen 1a (EA-Reagens) mit Fläschchen 1 (EA-Rekonstitutionspuffer) mit einem der beigelegten Adapter verbinden. Durch vorsichtiges Umdrehen mischen und dabei sicherstellen, dass das gesamte lyophilisierte Material aus Fläschchen 1a in Fläschchen 1 transmittiert wird. Schaumbildung vermeiden. Fläschchen 1a und Adapter von Fläschchen 1 abnehmen und entsorgen. Fläschchen 1 verschließen und ca. 5 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 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 – 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 der Reagenzflaschen vermeiden. Die Lösung R2 (Enzymspender) muss gelborange gefärbt sein. Ein rotes bzw. purpurrotes Reagens ist kontaminiert und muss entsorgt werden. Bei Trübung oder Niederschlägen Reagens 1 oder 2 entsorgen.

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

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

Die Haltbarkeit der ungeöffneten Komponenten ist dem Verfallsdatum auf dem Etikett der Verpackung und der Fläschchen zu entnehmen.

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

Sammeln Sie Urinproben stets in Kunststoffbehältern oder Glasgefäßen. Es sollte darauf geachtet werden, dass die chemische Integrität der Urinprobe vom Entnahmezeitpunkt bis zum Untersuchungszeitpunkt gewahrt bleibt.

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, stark eingetrübte 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 Verunreinigung 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 Buprenorphin II-Assays 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 570 nm zu messen und die Reaktionszeiten genau einzuhalten. Vor Durchführung des Assays sind die anwendungsspezifischen Anweisungen für das jeweilige Analysegerät und die entsprechenden Angaben zu den chemischen Parametern zu beachten.

Qualitative Analyse

Zur qualitativen Analyse sollte der CEDIA Buprenorphin II-Cutoff-Kalibrator (10 ng/ml) genutzt werden.

Semiquantitative Analyse

Zur semiquantitativen Analyse sollten alle fünf Kalibratoren verwendet werden.

Qualitätskontrolle und Kalibrierung

Gute Laborpraxis sieht vor, Kontrollproben zu untersuchen, um sicherzustellen, dass der Assay richtige Ergebnisse liefert. Die Kontrollergebnisse müssen innerhalb der vom Labor festgelegten Bereiche liegen. Die Assay-Ergebnisse sind ungültig, wenn die Kontrollergebnisse außerhalb dieser festgelegten Bereiche liegen. Alle Qualitätskontrollen müssen in Übereinstimmung mit den örtlichen, Landes- und/oder Bundesvorschriften bzw. Akkreditierungsbestimmungen durchgeführt werden. Jedes Labor sollte eigene Richtlinien für die Häufigkeit zur Qualitätskontrolle festlegen.

Ergebnisse und erwartete Werte

Qualitativ

Der 10 ng/ml-Kalibrator dient als Cutoff-Referenz für die Unterscheidung von „positiven“ und „negativen“ Proben. Proben mit derselben oder einer größeren Änderung der Extinktion (ΔA) als der Cutoff-Kalibrator gelten als positiv. Proben mit einer geringeren Änderung der Extinktion (ΔA) als der Cutoff-Kalibrator gelten als negativ.

Semiquantitativ

Die Wirkstoffkonzentration in den Proben lässt sich abschätzen, indem mit allen Kalibratoren eine Standardkurve erstellt wird und die Probenkonzentrationen anschließend relativ zur Standardkurve geschätzt werden. Sollte die Probenkonzentration über dem höchsten verwendeten Kalibrator liegen, sollte die Probe mit negativem Urin verdünnt und nochmals untersucht werden.

Einschränkungen

- Ein positives Ergebnis dieses Assays zeigt lediglich das Vorhandensein von Buprenorphin oder seiner Metaboliten an und muss nicht unbedingt mit dem Ausmaß der physiologischen und psychologischen Auswirkungen korrelieren. Er ist ein Auslesetest. Alle positiven Ergebnisse müssen mittels GC/MS oder LC-MS/MS bestätigt werden.
- Substanzen, die nicht in der Spezifitätsstudie untersucht wurden, können den Test beeinträchtigen und zu falschen Ergebnissen führen.
- Die Konzentrationsergebnisse 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.
- Leistungsdaten für die Durchführung des CEDIA Buprenorphin II-Assays wurden nur anhand von menschlichem Urin und nicht anhand anderer Körperflüssigkeiten festgelegt.

Spezifische Leistungsdaten

Typische, mit dem Analysegerät Beckman Coulter AU680 ermittelte Leistungsdaten sind unten aufgelistet. Möglicherweise unterscheiden sich die in Ihrem Labor ermittelten Leistungsdaten von diesen Werten.

Präzision

Die Proben wurden durch Anreicherung von wirkstofffreiem Urin mit Buprenorphin auf Basis des Cutoffs sowie 25 %, 50 %, 75 % und 100 % über und unter dem Cutoff hergestellt und sowohl im qualitativen als auch im semiquantitativen Modus unter Hinzuziehen eines Protokolls des Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) getestet. Die unten aufgeführten Ergebnisse wurden durch zweimal täglich stattfindende Tests aller Proben in 2 Replikaten gewonnen (insgesamt n = 60). Nachfolgend sind die repräsentativen Daten dargestellt.

Analyse der qualitativen Studie

Mit Buprenorphin angereicherte Konzentration (ng/ml)	% des Cutoffs (10 ng/ml)	LC-MS/MS (ng/ml)	Interassay (n = 80)	
			Anzahl der Bestimmungen	Ergebnisse des Immunoassays (negativ/positiv)
0	-100 %	0,00	80	80/0
2,5	-75 %	2,99	80	80/0
5	-50 %	5,31	80	80/0
7,5	-25 %	7,63	80	80/0
10	100 %	10,99	80	27/53
12,5	+25 %	12,97	80	0/80
15	+50 %	15,05	80	0/80
17,5	+75 %	18,92	80	0/80
20	+100 %	20,38	80	0/80

Analyse der semiquantitativen Studie

Mit Buprenorphin angereicherte Konzentration (ng/ml)	% des Cutoffs (10 ng/ml)	LC-MS/MS (ng/ml)	Interassay (n = 80)	
			Anzahl der Bestimmungen	Ergebnisse des Immunoassays (negativ/positiv)
0	-100 %	0,00	80	80/0
2,5	-75 %	2,99	80	80/0
5	-50 %	5,31	80	80/0
7,5	-25 %	7,63	80	80/0
10	100 %	10,99	80	35/45
12,5	+25 %	12,97	80	0/80
15	+50 %	15,05	80	0/80
17,5	+75 %	18,92	80	0/80
20	+100 %	20,38	80	0/80

Genauigkeit

Die Proben von 153 Patienten wurden anhand des CEDIA Buprenorphin II-Assays sowohl im qualitativen als auch im semiquantitativen Modus analysiert und die Ergebnisse mit der LC-MS/MS verglichen.

Qualitative Genauigkeitsstudie mit LC-MS/MS für Buprenorphin nur als Referenzverfahren

Ergebnisse des infrage kommenden Gerätes	Negativ	< 50 % der Cutoff-Konzentration anhand von LC-MS/MS (< 5 ng/ml)	Nahe Cutoff-Negativ (Zwischen 50 % unter dem Cutoff und der Cutoff-Konzentration gemäß LC-MS/MS) (5 – 9,9 ng/ml)	Nahe Cutoff-Positiv (Zwischen dem Cutoff und 50 % über der Cutoff-Konzentration gemäß LC-MS/MS) (10 – 15,0 ng/ml)	Hohes Positiv (Mehr als 50 % über der Cutoff-Konzentration) (> 15,0 ng/ml)
Positiv	31*	11*	4*	5	45
Negativ	49	2	6	0	0

Semiquantitative Genauigkeitsstudie mit LC-MS/MS für Buprenorphin nur als Referenzverfahren

Ergebnisse des infrage kommenden Gerätes	Negativ	< 50 % der Cutoff-Konzentration anhand von LC-MS/MS (< 5 ng/ml)	Nahe Cutoff-Negativ (Zwischen 50 % unter dem Cutoff und der Cutoff-Konzentration gemäß LC-MS/MS) (5 – 9,9 ng/ml)	Nahe Cutoff-Positiv (Zwischen dem Cutoff und 50 % über der Cutoff-Konzentration gemäß LC-MS/MS) (10 – 15,0 ng/ml)	Hohes Positiv (Mehr als 50 % über der Cutoff-Konzentration) (> 15,0 ng/ml)
Positiv	32*†	11*	4*	5	45
Negativ	48	2	6	0	0

***Tabelle für abweichende Proben**

Genauigkeitsproben wurden auf der Grundlage der LC-MS/MS-Konzentration nur für Buprenorphin zugeordnet. Die nachstehende Tabelle zeigt die Proben mit einer Buprenorphin-Konzentration unterhalb des Cutoffs, bei denen das beobachtete Ergebnis des CEDIA Buprenorphin-II-Assays aufgrund des Nachweises von Buprenorphin-Metaboliten positiv war.

Proben-ID	EIA		LC-MS/MS-Konzentration (ng/ml)				
	Qualitativer Modus	SQ (ng/ml)	Bup***	NorBup [†]	Bup-Glu [†]	NorBup-Glu [†]	Gesamt mittels LC-MS/MS
51	Pos.	10,08	< LLOQ**	2,27	1,96	6,18	10,41
52	Pos.	10,02	< LLOQ	0,69	3,15	6,84	10,68
53 [‡]	Neg.	10,42	< LLOQ	1,08	7,89	1,82	10,79
54	Pos.	11,59	< LLOQ	1,09	5,67	5,54	12,30
55	Pos.	10,40	< LLOQ	3,27	2,54	7,92	13,73
56	Pos.	16,36	< LLOQ	4,02	7,46	3,73	15,21
57	Pos.	17,31	< LLOQ	3,28	10,67	3,09	17,04
58	Pos.	19,82	< LLOQ	5,03	10,91	2,05	17,99
59	Pos.	18,73	< LLOQ	3,10	9,09	6,59	18,78
60	Pos.	22,63	< LLOQ	4,18	8,30	7,34	19,82
61	Pos.	18,95	< LLOQ	1,96	9,90	9,90	21,76
62	Pos.	26,11	< LLOQ	4,36	10,87	6,92	22,15
63	Pos.	24,99	< LLOQ	5,26	8,41	9,01	22,68
64	Pos.	24,91	< LLOQ	3,86	23,19	< LLOQ	27,05
65	Pos.	20,87	< LLOQ	1,44	14,06	14,06	29,56
66	Pos.	23,21	< LLOQ	2,23	25,24	2,50	29,97
67	Pos.	30,27	< LLOQ	4,42	8,82	16,84	30,08
68	Pos.	31,35	< LLOQ	16,52	9,41	5,47	31,40
69	Pos.	35,38	< LLOQ	7,13	5,30	22,38	34,81
70	Pos.	40,38	< LLOQ	12,21	18,65	9,11	39,97
71	Pos.	38,44	< LLOQ	2,93	12,40	28,84	44,17
72	Pos.	48,60	< LLOQ	23,41	15,34	5,44	44,19
73	Pos.	62,31	< LLOQ	5,47	36,52	25,00	66,99
74	Pos.	81,31	< LLOQ	33,59	23,42	12,72	69,73
75	Pos.	88,67	< LLOQ	26,22	32,43	23,10	81,75
76	Pos.	79,26	< LLOQ	6,34	80,00	2,77	89,11
77	Pos.	> 100,01	< LLOQ	8,63	56,89	46,95	112,47
78	Pos.	> 100,01	< LLOQ	101,98	10,40	9,90	122,28
79	Pos.	> 100,01	< LLOQ	7,91	26,43	144,00	178,34
80	Pos.	> 100,01	< LLOQ	49,66	97,61	121,12	268,39
81	Pos.	> 100,01	< LLOQ	< LLOQ	145,72	394,81	540,53
82	Pos.	> 100,01	< LLOQ	129,95	105,07	664,47	899,49
83	Pos.	> 100,01	0,81	32,14	39,52	59,14	131,61
84	Pos.	63,54	0,86	7,41	29,46	31,38	69,11
85	Pos.	20,48	0,90	5,42	11,54	< LLOQ	17,86
86	Pos.	> 100,01	0,91	54,00	18,10	10,52	83,53
87	Pos.	46,32	2,00	12,03	13,58	16,24	43,85
88	Pos.	> 100,01	2,00	6,83	193,42	131,65	333,90
89	Pos.	> 100,01	2,02	75,75	174,74	442,98	695,49
90	Pos.	66,32	2,48	6,53	57,67	1,52	68,20
91	Pos.	> 100,01	3,63	80,26	733,7	624,02	1441,61
92	Pos.	> 100,01	4,38	69,28	146,16	349,33	569,15
93	Pos.	> 100,01	4,45	59,03	55,01	17,31	135,80
100	Pos.	> 100,01	8,64	36,91	> ULOQ**	224,42	> 1000
101	Pos.	> 100,01	8,94	51,32	497,32	55,06	612,64
102	Pos.	> 100,01	5,22	35,13	85,99	22,24	148,58
103	Pos.	77,36	6,60	147,58	195,67	40,28	390,13

** < LLOQ: Untere Bestimmungsgrenze (0,65 ng/ml), > ULOQ: Obere Bestimmungsgrenze (1000 ng/ml);

*** Bup: Buprenorphin;

NorBup: Norbuprenorphin;

† Bup-Glu: Buprenorphin-β-D-Glucuronid;

‡ NorBup-Glu: Norbuprenorphin-β-D-Glucuronid;

‡ Zusätzliche abweichende Probe für semiquantitativen Modus

Wiederfindung des Analyten und Verdünnungslinearität

Zur Demonstration der Verdünnungslinearität, um die Probe zu verdünnen und die Qualität des gesamten Assay-Bereichs zu kontrollieren, wurde wirkstofffreier Urin bis zu einem hohen Kalibratorlevel mit Buprenorphin (100 ng/ml) angereichert und mit wirkstofffreiem Urin verdünnt, um 10 Zwischenstufen zu erzeugen. Die Proben wurden im semiquantitativen Modus in 5 Replikaten getestet. Anschließend wurde der Durchschnitt herangezogen, um die prozentuale Wiederfindung im Vergleich zu den erwarteten Zielwerten zu bestimmen. Nachfolgend sind die repräsentativen Daten dargestellt.

Buprenorphin		Wiederfindung (%)
Zielkonzentration (ng/ml)	Beobachtete Konzentration (ng/ml)	
5	5,99	119,8
10	10,97	109,7
20	19,66	98,3
30	33,03	110,1
40	43,83	109,6
50	52,98	106,0
60	67,28	112,1
70	77,54	110,8
80	85,14	106,4
90	95,38	106,0
100	104,70	104,7

Spezifität

Die Bewertung der Kreuzreaktivität von Buprenorphin und seiner Metaboliten erfolgte durch Hinzufügen einer bekannten Menge aller Analyten zum wirkstofffreien Urin. Wie anhand der in der Tabelle darunter aufgeführten Ergebnisse angegeben, weisen Buprenorphin, Norbuprenorphin und Norbuprenorphinglucuronid eine Kreuzreaktivität von ≥ 100 % auf. Buprenorphinglucuronid zeigte eine geringere Kreuzreaktivität.

Buprenorphin und seine Metaboliten	Getestete Konzentration (ng/ml)	Pos./neg.	Kreuzreaktivität (%)
Buprenorphin	10	Pos.	100
Norbuprenorphin	8	Pos.	125
Buprenorphin-β-D-glucuronid	13	Pos.	76,9
Norbuprenorphin-β-D-glucuronid	10	Pos.	100

Kreuzreaktivität strukturell verwandter und nicht verwandter Opiatverbindungen

Strukturell nicht verwandte Verbindungen und andere Opiate	Getestete Konzentration (ng/ml)	Pos./neg.	Kreuzreaktivität (%)
6-Acetylmorphin	100.000	Neg.	< 0,01
Diacetylmorphin (Heroin)	100.000	Neg.	< 0,01
Codein	100.000	Neg.	< 0,01
Dextromethorphan	100.000	Neg.	< 0,01
Dihydrocodein	100.000	Neg.	< 0,01
EDDP (2-Ethyliden-1,5-Dimethyl-3,3-Diphenylpyrrolidin)	100.000	Neg.	< 0,01
EMDP (2-Ethyl-5-Methyl-3,3-Diphenylpyrrolin)	100.000	Neg.	< 0,01
Fentanyl	100.000	Neg.	< 0,01
Hydrocodon	100.000	Neg.	< 0,01
Hydromorphan	100.000	Neg.	< 0,01
Hydromorphan-β-D-glucuronid	10.000	Neg.	< 0,1
LAAM (Levo-α-acetylmethadol)	100.000	Neg.	< 0,01
Levorphanol	100.000	Neg.	< 0,01
Methadon	100.000	Neg.	< 0,01
Meperidin	100.000	Neg.	< 0,01
Morphin	100.000	Neg.	< 0,01
Morphin-3β-D-glucuronid	100.000	Neg.	< 0,01

Fortsetzung der Tabelle

Strukturell nicht verwandte Verbindungen und andere Opiate	Getestete Konzentration (ng/ml)	Pos./neg.	Kreuzreaktivität (%)
Morphin-6β-D-glucuronid	100.000	Neg.	< 0,01
Nalorphin	100.000	Neg.	< 0,01
Naloxon	100.000	Neg.	< 0,01
Naltrexon	100.000	Neg.	< 0,01
Norcodein	100.000	Neg.	< 0,01
Norhydrocodon	100.000	Neg.	< 0,01
Norpropoxyphen	100.000	Neg.	< 0,01
Noroxycodon	100.000	Neg.	< 0,01
Noroxymorphon	100.000	Neg.	< 0,01
Oxymorphon-β-D-glucuronid	10.000	Neg.	< 0,1
Oxycodon	100.000	Neg.	< 0,01
Oxymorphon	100.000	Neg.	< 0,01
Tapentadol	100.000	Neg.	< 0,01
Tramadol	100.000	Neg.	< 0,01

Die Bewertung einer möglichen Kreuzreaktivität, die von Wirkstoffen ausgeht, die häufig zusammen mit Buprenorphin verabreicht werden, erfolgte durch Hinzufügen der Substanzen zu Buprenorphin, mit dem die niedrigen (7,5 ng/ml) und hohen (12,5 ng/ml) Kontrollen mit den angegebenen Konzentrationen angereichert wurden. Von einem Wirkstoff wurde erwartet, dass eine Kreuzreaktivität auftritt, wenn die Ergebnisse der beobachteten Buprenorphin-Konzentrationen höher als 10 ng/ml sind. Wie in der Tabelle darunter dargestellt, zeigten alle pharmakologischen Verbindungen, die bewertet wurden, bei den getesteten Konzentrationen eine minimale Kreuzreaktivität.

Strukturell nicht verwandte Verbindungen, mit denen die niedrigen und hohen Konzentrationen mit der unten angegebenen Konzentration angereichert wurden

Kreuzreaktanten	Angereicherte Konzentration (ng/ml)	Angereichertes Buprenorphin-Level	
		Niedrige Kontrolle	Hohe Kontrolle
Acetaminophen	500.000	Neg.	Pos.
Acetylsalicylsäure	500.000	Neg.	Pos.
Amitriptylin	50.000	Neg.	Pos.
Amoxicillin	100.000	Neg.	Pos.
Amphetamin	1.000.000	Neg.	Pos.
Amisulprid	100.000	Neg.	Pos.
Benzoylcegonin	1.000.000	Neg.	Pos.
Koffein	100.000	Neg.	Pos.
Carbamazepin	100.000	Neg.	Pos.
Chlorpromazin	100.000	Neg.	Pos.
Clomipramin	25.000	Neg.	Pos.
Chloroquin	100.000	Neg.	Pos.
Cimetidin	500.000	Neg.	Pos.
Desipramin	10.000	Neg.	Pos.
Doxepin	25.000	Neg.	Pos.
Diphenhydramin	100.000	Neg.	Pos.
Ephedrin	100.000	Neg.	Pos.
Fluoxethin	100.000	Neg.	Pos.
Fluphenazin	100.000	Neg.	Pos.
Hydroxychloroquin	100.000	Neg.	Pos.
Ibuprofen	100.000	Neg.	Pos.
Imipramin	25.000	Neg.	Pos.
Maprotilin	100.000	Neg.	Pos.
Mitragynin	100.000	Neg.	Pos.
7-Hydroxymitragynin	10.000	Neg.	Pos.
Nalbuphin	100.000	Neg.	Pos.
Nortriptylin	50.000	Neg.	Pos.
Oxazepam	100.000	Neg.	Pos.

Fortsetzung der Tabelle

Kreuzreaktanten	Angereicherte Konzentration (ng/ml)	Angereichertes Buprenorphin-Level	
		Niedrige Kontrolle	Hohe Kontrolle
Phencyclidin	100.000	Neg.	Pos.
Phenobarbital	100.000	Neg.	Pos.
Ranitidin	500.000	Neg.	Pos.
Secobarbital	100.000	Neg.	Pos.
Sulpirid	100.000	Neg.	Pos.
Thioridazin	100.000	Neg.	Pos.
Trimipramin	25.000	Neg.	Pos.

Interferenz

Die Bewertung einer möglichen Interferenz zwischen dem pH-Wert und endogenen physiologischen Substanzen bei der Wiederfindung von Buprenorphin anhand des CEDIA Buprenorphin II-Assays erfolgte anhand der Anreicherung von niedrigen (7,5 ng/ml) und hohen (12,5 ng/ml) Kontrollen mit bekannten Verbindungen bei einem Cutoff von 10 ng/ml, die aus Substanzen bestehen, die zu einer Interferenz führen können. Bei Vorhandensein der unten aufgeführten Verbindungen wurden die Kontrollen genau nachgewiesen. Das zeigt, dass diese Verbindungen keine Interferenz in dem Assay aufweisen.

Verbindung	Getestete Konzentration (ng/dl)	Angereichertes Buprenorphin-Level	
		Niedrige Kontrolle	Hohe Kontrolle
Acetaminophen	10	Neg.	Pos.
Aceton	500	Neg.	Pos.
Acetylsalicylsäure	10	Neg.	Pos.
Ascorbinsäure	150	Neg.	Pos.
Koffein	10	Neg.	Pos.
Kreatinin	400	Neg.	Pos.
Ethanol	10	Neg.	Pos.
Galactose	5	Neg.	Pos.
Glucose	1000	Neg.	Pos.
Hämoglobin	150	Neg.	Pos.
Humanserumalbumin	200	Neg.	Pos.
Ibuprofen	10	Neg.	Pos.
Oxalsäure	50	Neg.	Pos.
Riboflavin	3	Neg.	Pos.
Natriumchlorid	1000	Neg.	Pos.
Harnstoff	1000	Neg.	Pos.
pH-Wert	3	Neg.	Pos.
pH-Wert	4	Neg.	Pos.
pH-Wert	5	Neg.	Pos.
pH-Wert	6	Neg.	Pos.
pH-Wert	7	Neg.	Pos.
pH-Wert	8	Neg.	Pos.
pH-Wert	9	Neg.	Pos.
pH-Wert	10	Neg.	Pos.
pH-Wert	11	Neg.	Pos.

Spezifisches Gewicht

Wirkstofffreie Urinproben mit einem spezifischen Gewicht von 1,002 bis 1,030 wurden aufgespalten und zu einer finalen Konzentration von 7,5 ng/ml oder 12,5 ng/ml (jeweils die niedrigen und hohen Konzentrationen der Kontrollen) hinzugegeben. Die Proben wurden anschließend sowohl im qualitativen als auch im semiquantitativen Modus bewertet. Es wurde keine Interferenz festgestellt.

Spezifisches Gewicht	Angereichertes Buprenorphin-Level	
	Niedrige Kontrolle	Hohe Kontrolle
1,002	Neg.	Pos.
1,004	Neg.	Pos.
1,008	Neg.	Pos.
1,013	Neg.	Pos.
1,016	Neg.	Pos.
1,018	Neg.	Pos.
1,022	Neg.	Pos.
1,023	Neg.	Pos.
1,025	Neg.	Pos.
1,030	Neg.	Pos.

Literatur

1. *Mandatory Guideline for Federal Workplace Drug Testing Programs*. National Institute on Drug Abuse. Federal Register Vol. 73, Nr. 228, 2008:71893.
2. Baselt, RC: Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 5. Ausgabe. Chemical Toxicology Institute, Foster 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 Toxicology*, 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 März; 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, 22. Mai; 68(99):27937 – 9.
7. Tracqui, A./Kintz, P./Ludes, B. Buprenorphine-related deaths among French addicts in France: a report on 20 fatalities. *J Anal Toxicology* 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/Harrid JD et al., CEDIA, A new homogenous 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 – Zweite Ausgabe, *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLIS)* (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 (9. Juni):11983.

Glossar:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Gebührenfrei in den USA:
1-800-232-3342



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

© 2020 Thermo Fisher Scientific, Inc. Alle Rechte vorbehalten.
CEDIA® ist eine eingetragene Marke von Roche Diagnostics.



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