

IVD Wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*

Rx Only

REF 10020849 (zestaw 3 × 17 ml)
10020850 (zestaw 65 ml)

Przeznaczenie

CEDIA® Buprenorphine II Assay jest homogennym testem immunoenzymatycznym do jakościowego i/lub półilościowego oznaczania obecności buprenorfiny i jej metabolitów w ludzkim moczu przy stężeniu odcinka wynoszącym 10 ng/ml. Test jest przeznaczony do stosowania w laboratoriach i zapewnia prostą i szybką analityczną procedurę przesiewową do wykrywania buprenorfiny i jej metabolitów w ludzkim moczu. Test jest przeznaczony do stosowania w szeregu klinicznych analizatorów chemicznych.

Tryb półilościowy ma w założeniu umożliwić laboratoriom ustalanie właściwego rozcieńczenia próbek w celu ich analizy metodami potwierdzającymi, np. chromatografią cieczową sprzężoną z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) lub opracowywanie procedur kontroli jakości.

Opisywany test pozwala na uzyskanie jedynie wstępnego wyniku analitycznego. W celu uzyskania potwierzonego wyniku analitycznego należy użyć bardziej swoistej alternatywnej metody chemicznej. Preferowaną metodą potwierdzającą jest chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC/MS) lub chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS).¹

Każdy wynik testu na obecność narkotyków wymaga oceny specjalistycznej i klinicznej, zwłaszcza jeśli stosuje się wyniki wstępne. Wyłącznie do stosowania w diagnostyce *in vitro*.

Podstawowe informacje i wyjaśnienie działania testu

Buprenorfina jest półsyntetycznym opioidowym środkiem przeciwbólowym uzyskiwanym z tebainy, występującego w niewielkich ilościach składnika opium. Buprenorfina jest pod względem strukturalnym podobna do morfiny. Jest częściowo agonistycznym modulatorem receptorów.² Buprenorfina wykazuje dłuższy czas działania od morfiny i można ją podawać podjęzykowo jako środek przeciwbólowy. Produkt Subutex®, preparat buprenorfiny o wyższej dawce, jest powszechnie stosowany w Europie i poza nią do zastępczego leczenia uzależnień od opiatów.³⁻⁵ Amerykańska agencja FDA zatwierdziła produkty Subutex i Suboxone®, zawierające buprenorfinę jako składnik czynny, do stosowania w leczeniu uzależnienia od opiatów w USA. Na mocy amerykańskiej ustawy Drug Abuse Treatment Act (DATA) z 2003 r. produkty Subutex i Suboxone są pierwszymi dostępnymi w USA narkotykami do leczenia uzależnienia od opiatów, które mogą przepisywać lekarze w placówkach opieki zdrowotnej.⁶ Wykazano również, że buprenorfina może być nadużywana i powodować uzależnienia. Ponadto odnotowano zgony będące wynikiem przedawkowania buprenorfiny wstrzykiwanej dożylnie w skojarzeniu z innymi lekami psychotropowymi, takimi jak benzodiazepiny.⁷ Buprenorfina jest metabolizowana głównie w drodze N-dealkilacji, tworząc norbuprenorfinę, a także koniugacji, tworząc buprenorfinoglukuronid i norbuprenorfinoglukuronid.⁸

W teście CEDIA Buprenorphine II Assay wykorzystano technologię rekombinacji DNA do produkcji wyjątkowego systemu homogennych oznaczeń immunoenzymatycznych.⁹ Test jest oparty na enzymie bakteryjnym, β-galaktozydazie (z bakterii *Escherichia coli*), którą zmodyfikowano genetycznie, tworząc dwa nieaktywne fragmenty. Fragmenty te spontanicznie reasocjują, tworząc w pełni aktywny enzym, który podczas oznaczania rozszepia substrat, powodując zmianę koloru, którą można mierzyć spektrofotometrycznie przy długości fali 570 nm.

W teście tym analit w próbce konkuruje z analitem koniugującym z nieczynnym fragmentem (donorem enzymu) β-galaktozydazy o miejsce wiązania w przeciwciele. Jeśli analit jest obecny w próbce, wiąże się on z przeciwciałem, a nieaktywne fragmenty enzymu pozostają wolne, gotowe do utworzenia aktywnego enzymu. Jeśli analit nie jest obecny w próbce, przeciwciało wiąże się z analitem koniugującym z fragmentem nieaktywnym, hamując ponowne łączenie nieaktywnych fragmentów β-galaktozydazy, w związku z czym aktywny enzym nie jest tworzony. Ilość utworzonego aktywnego enzymu i wynikająca z tego zmiana w poziomie absorbancji są wprost proporcjonalne do ilości analitu obecnej w próbce.

Odczynniki

- 1 EA Reconstitution Buffer (Bufor do odtwarzania akceptora enzymu)**
Zawiera sole buforujące, mysie przeciwciało monoklonalne przeciwko pochodnym buprenorfiny (0,8–1,0 mg/l), stabilizator oraz środek konserwujący.
- 1a EA Reagent (Odczynnik akceptora enzymu)**
Zawiera roztwór 0,171 g/l akceptora enzymu, sole buforujące oraz środek konserwujący.
- 2 ED Reconstitution Buffer (Bufor do odtwarzania akceptora enzymu)**
Zawiera sole buforujące, stabilizatory i środki konserwujące
- 2a ED Reagent (Odczynnik donora enzymu)**
Zawiera roztwór 0,175 mg/l donora enzymu sprzężonego z pochodną buprenorfiny, roztwór 1,67 g/l czerwieni chlorofenolowej-β-D-galaktopiranozydu, stabilizatory, detergent i środek konserwujący.

Dodatkowe materiały wymagane (sprzedawane oddzielnie):

REF	Opis zestawu
10021390	CEDIA Negative Calibrator II (1 × 7,5 ml)
10020799	CEDIA Buprenorphine II Calibrator 10 ng/ml (1 × 5 ml)
10020800	CEDIA Buprenorphine II Calibrator 20 ng/ml (1 × 5 ml)
10020801	CEDIA Buprenorphine II Calibrator 50 ng/ml (1 × 5 ml)
10020802	CEDIA Buprenorphine II Calibrator 100 ng/ml (1 × 5 ml)
10020804	CEDIA Buprenorphine II Low (7,5 ng/ml) i High (12,5 ng/ml) Control (2 × 5 ml każdy)

⚠ Ostrzeżenia i środki ostrożności

NIEBEZPIECZEŃSTWO: Odczynniki proszkowe zawierają albuminę surowicy bydlęcej (BSA) w stężeniu wagowym ≤ 55% i azidek sodu w stężeniu wagowym ≤ 1%. Odczynniki płynne zawierają surowicę bydlęcą o stężeniu ≤ 0,5%, azidek sodu o stężeniu ≤ 0,2% i swoiste dla leku przeciwciało (mysie) o stężeniu ≤ 0,1%.

Odczynniki są szkodliwe w przypadku połknięcia.

H317 — Może powodować reakcję alergiczną skóry.

H334 — Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania.

EUH032 — W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.

Unikać wdychania mgły lub par. Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy. W przypadku niedostatecznej wentylacji stosować środki ochrony dróg oddechowych. W przypadku kontaktu ze skórą: umyć dużą ilością wody z mydłem. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: W przypadku trudności z oddychaniem wyprowadzić lub wnieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić warunki do odpoczynku w pozycji umożliwiającej swobodne oddychanie. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady / zgłosić się do lekarza. W przypadku wystąpienia objawów ze strony układu oddechowego: Skontaktować się z OŚRODKIEM KONTROLI ZATRUCI lub z lekarzem. Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z przepisami lokalnymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi.

W razie przypadkowego rozlania należy posprzątać i zutylizować materiał zgodnie ze standardową procedurą operacyjną (SOP) obowiązującą w danym laboratorium oraz lokalnymi przepisami.

W przypadku otrzymania uszkodzonego opakowania należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem pomocy technicznej (dane kontaktowe znajdują się na ostatniej stronie niniejszej ulotki dołączonej do opakowania).

Przygotowywanie i przechowywanie odczynników

Informacje o przygotowaniu roztworów można znaleźć w części poniżej. Zestaw należy wyjąć z lodówki (2–8°C) bezpośrednio przed przygotowaniem roztworów.

W celu zminimalizowania ryzyka skażenia roztwory należy przygotować w następującej kolejności:

Roztwór R2 donora enzymu

Połącz butelkę 2a (odczynnik donora enzymu) z butelką 2 (bufor do odtwarzania donora enzymu) za pomocą jednego z załączonych adapterów. Zmieszaj poprzez delikatne obrócenie, upewniając się, że cała zliofilizowana zawartość butelki 2a przedostała się do butelki 2. Nie dopuść do wytworzenia piany. Odłącz butelkę 2a z adapterem od butelki 2 i wyrzuć. Zakręć butelkę 2 i odstaw na około 5 minut w temperaturze pokojowej (21–25°C). Zmieszaj ponownie. Na etykiecie butelki zapisz datę odtworzenia. Umieść butelkę bezpośrednio w komorze reakcyjnej analizatora lub w chłodnym miejscu (w temp. 2–8°C) i pozostaw ją tam na 30 minut przed użyciem.

Roztwór R1 akceptora enzymu

Połącz butelkę 1a (odczynnik akceptora enzymu) z butelką 1 (buforem do odtwarzania akceptora enzymu) za pomocą jednego z załączonych adapterów. Zmieszaj poprzez delikatne obrócenie, upewniając się, że cała zliofilizowana zawartość butelki 1a przedostała się do butelki 1. Nie dopuść do wytworzenia piany. Odłącz butelkę 1a z adapterem od butelki 1 i wyrzuć. Zakręć butelkę 1 i odstaw na około 5 minut w temperaturze pokojowej (21–25°C). Zmieszaj ponownie. Na etykiecie butelki zapisz datę odtworzenia. Umieść butelkę bezpośrednio w komorze reakcyjnej analizatora lub w chłodnym miejscu (w temp. 2–8°C) i pozostaw ją tam na 30 minut przed użyciem.

⚠ UWAGA 1: Elementy wchodzące w skład zestawu przeznaczone są do stosowania jako integralna całość. Nie należy mieszać składników pochodzących z różnych partii.

⚠ UWAGA 2: Aby uniknąć zanieczyszczenia odczynników, butelki z odczynnikiem należy zamykać za pomocą odpowiednich nakrętek. Roztwór R2 donora enzymu powinien mieć kolor żółto-pomarańczowy. Kolor czerwony lub czerwono-fioletowy oznacza, że odczynnik został zanieczyszczony i należy go wyrzucić/zutylizować. Odczynniki 1 lub 2 należy wyrzucić w przypadku pojawienia się zmętnienia lub osadu.

⚠ UWAGA 3: Roztwory R1 i R2 muszą przed przeprowadzeniem testu mieć taką samą temperaturę, jaka panuje w szowku na odczynniku analizatora. Dodatkowe informacje można znaleźć w karcie zastosowań konkretnego analizatora.

Odczynniki przechowywać w temperaturze 2–8°C. **NIE ZAMRAŻAĆ.**

Zamknięte fabrycznie produkty zachowują trwałość do daty ważności podanej na pudełku lub na etykiecie butelki.

Roztwór R1: 60 dni w chłodziarce analizatora lub w temp. 2–8°C.

Roztwór R2: 60 dni w chłodziarce analizatora lub w temp. 2–8°C.

Pobieranie próbek i postępowanie z nimi

Pobrać próbki moczu do pojemników szklanych lub plastikowych. Należy dbać o integralność chemiczną próbki moczu od momentu jej pobrania do momentu przeprowadzenia testu.

Próbki przechowywane w temperaturze pokojowej, które nie zostaną wstępnie przetestowane w ciągu 8 dni¹⁰ od ich otrzymania przez laboratorium należy umieścić w bezpiecznych warunkach chłodniczych w temperaturze 2–8°C i przechowywać maks. przez 30 dni.^{11,12} W przypadku dłuższego przechowywania próbki moczu przed analizą lub zamiaru jej zachowania po analizie można ją przechowywać w temperaturze -20°C.¹³ Badania wykazały, że anality buprenorfinowe w moczu są stabilne w temperaturze -20°C przez maks. 85 dni.¹³

Laboratoria pracujące zgodnie z obowiązkowymi wytycznymi SAMHSA powinny zapoznać się z wymogami SAMHSA dotyczącymi krótkoterminowego przechowywania w warunkach chłodniczych i przechowywania długoterminowego.¹⁴

W celu ochrony integralności próbki nie należy powodować tworzenia się piany i należy unikać zamrażania i rozmrażania. Należy dołożyć wszelkich starań, aby odmierzone pipetą próbki były wolne od większych cząstek osadu. Zaleca się odwirowanie przed analizą próbek o znacznej mętności. Zamrożone próbki przed oznaczeniem należy rozmrozić i wymieszać. Zanieczyszczenie próbki moczu może być przyczyną błędnego oznaczenia. W przypadku podejrzenia zanieczyszczenia należy pozyskać drugą próbkę i przekazać obie próbki do badań laboratoryjnych.

Wszystkie próbki pacjentów należy traktować jako potencjalnie zakażne.

Procedura wykonania testu

Test CEDIA Buprenorphine II Assay jest przeznaczony do stosowania z automatycznymi analizatorami klinicznymi, które utrzymują stałą temperaturę, pipetują płyny, mieszają odczynniki i mierzą poziom reakcji enzymatycznej przy długości fali 570 nm, a także przeprowadzają reakcję w odpowiednim czasie.

Przed wykonaniem testu należy zapoznać się z określonymi instrukcjami dla każdego stosowanego analizatora pod kątem parametrów chemicznych.

Analiza jakościowa

Do analizy jakościowej należy stosować kalibrator wartości odcięcia CEDIA Buprenorphine II (10 ng/ml).

Analiza półilościowa

Do analizy półilościowej należy stosować wszystkie pięć kalibratorów.

Kontrola jakości i kalibracja

Zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej w celu prawidłowego wykonywania testów należy stosować próby kontrolne. Należy dopilnować, aby wyniki prób kontrolnych znajdowały się w zakresach ustalonych zgodnie z procedurami i wytycznymi obowiązującymi w laboratorium. Jeśli wyniki znajdują się poza ustalonymi zakresami, wyniki testu są nieważne. Wszystkie wymagania dotyczące kontroli jakości należy realizować zgodnie z obowiązującymi przepisami lokalnymi i/lub krajowymi lub wymogami akredytacyjnymi. W każdym laboratorium należy ustalić odpowiednią częstotliwość przeprowadzania testów w ramach kontroli jakości.

Wyniki i wartości oczekiwane

Analiza jakościowa

Kalibrator o stężeniu 10 ng/ml stosuje się jako standard wskazujący wartość odcięcia, który pozwala na rozróżnienie próbek „dodatnich” i „ujemnych”. Próbkę wykazującą zmianę wartości absorbancji (ΔA) równą lub większą od wartości odcięcia uzyskanej dla kalibratora uznaje się za dodatnią. Próbkę wykazującą zmianę wartości absorbancji (ΔA) mniejszą od wartości odcięcia uzyskanej dla kalibratora uznaje się za ujemną.

Analiza półilościowa

Szacunkową wartość stężenia leku w próbkach można uzyskać poprzez wyznaczenie krzywej standardowej z użyciem wszystkich kalibratorów i oszacowanie stężeń próbek na podstawie tej krzywej. Próbki, dla których uzyskano wyniki przekraczające wynik kalibratora o wysokim stężeniu, należy rozcieńczyć z ujemnym kalibratorem moczu i zmierzyć ponownie.

Ograniczenia

1. Dodatni wynik opisywanego testu wskazuje jedynie na obecność buprenorfiny lub jej metabolitów i niekoniecznie koreluje z nasileniem działania fizjologicznego i psychologicznego. Jest to test przesiewowy. Wszystkie wyniki dodatnie należy potwierdzić metodami GC/MS lub LC-MS/MS.
2. Niekiedy substancje inne niż analizowane w badaniu swoistości mogą zakłócać przebieg opisywanego testu i powodować uzyskanie fałszywych wyników.
3. Należy zachować szczególną ostrożność podczas zgłaszania wyników badania stężenia, gdyż na wynik oznaczenia w moczu może wpływać wiele czynników, np. przyjmowanie płynów i inne czynniki biologiczne.
4. Nie ustalono charakterystyki działania testu CEDIA Buprenorphine II w odniesieniu do płynów ustrojowych innych niż moczu.

Szczegółowa charakterystyka działania

Typowe wyniki analizy działania testu uzyskane w analizatorze Beckman Coulter AU680 przedstawiono poniżej. Wyniki uzyskane w innym laboratorium mogą się różnić od tych danych.

Precyzja

Próbki przygotowano poprzez dodanie buprenorfiny do moczu niezawierającego tego leku w ilości odpowiadającej wartości odcięcia oraz wartościom o 25%, 50%, 75% i 100% wyższym i niższym od wartości odcięcia, a następnie przebadano w trybach jakościowym i półilościowym, korzystając z protokołu Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI). Wyniki podane poniżej uzyskano, badając wszystkie próbki w 2 powtórzeniach dwa razy dziennie przez 20 dni; całkowita liczba prób $n = 80$. Poniżej przedstawiono dane reprezentatywne.

Analiza jakościowa badania

Stężenie dodanej buprenorfiny (ng/ml)	% wartości odcięcia (10 ng/ml)	LC-MS/MS (ng/ml)	Precyzja całkowita (n = 80)	
			Liczba analiz	Wyniki testu immunoenzymatycznego (ujemny/dodatni)
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

Analiza półilościowa badania

Stężenie dodanej buprenorfiny (ng/ml)	% wartości odcięcia (10 ng/ml)	LC-MS/MS (ng/ml)	Precyzja całkowita (n = 80)	
			Liczba analiz	Wyniki testu immunoenzymatycznego (ujemny/dodatni)
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

Dokładność

Za pomocą testu CEDIA Buprenorphine II Assay przetestowano 153 próbki moczu pacjentów zarówno w trybie jakościowym, jak i półilościowym, a wyniki porównano z wynikami analizy LC-MS/MS.

Jakościowe badanie dokładności z analizą LC-MS/MS samej buprenorfiny jako metodą odniesienia

Wyniki testowanych urzędzeń	Ujemny	< 50% wartości odcięcia wyznaczonej w analizie LC-MS/MS (< 5 ng/ml)	Bliski wartości odcięcia – ujemny (między 50% poniżej wartości odcięcia a stężeniem odcięcia wyznaczonym w analizie LC-MS/MS) (5–9,9 ng/ml)	Bliski wartości odcięcia – dodatni (między wartością odcięcia a 50% powyżej stężenia odcięcia wyznaczonego w analizie LC-MS/MS) (10–15,0 ng/ml)	Wysoki wynik dodatni (ponad 50% powyżej wartości odcięcia) (> 15,0 ng/ml)
Dodatni	31*	11*	4*	5	45
Ujemny	49	2	6	0	0

Półilościowe badanie dokładności z analizą LC-MS/MS samej buprenorfiny jako metodą odniesienia

Wyniki testowanych urzędzeń	Ujemny	< 50% wartości odcięcia wyznaczonej w analizie LC-MS/MS (< 5 ng/ml)	Bliski wartości odcięcia – ujemny (między 50% poniżej wartości odcięcia a stężeniem odcięcia wyznaczonym w analizie LC-MS/MS) (5–9,9 ng/ml)	Bliski wartości odcięcia – dodatni (między wartością odcięcia a 50% powyżej stężenia odcięcia wyznaczonego w analizie LC-MS/MS) (10–15,0 ng/ml)	Wysoki wynik dodatni (ponad 50% powyżej wartości odcięcia) (> 15,0 ng/ml)
Dodatni	32 *#	11*	4*	5	45
Ujemny	48	2	6	0	0

***Tabela z wynikami niezgodnych próbek**

Próbki z badania dokładności podzielono na kategorie na podstawie wyniku analizy stężenia metodą LC-MS/MS z sąmą buprenorfiną. W poniższej tabeli wymieniono próbki z buprenorfiną o stężeniu poniżej wartości odcięcia, w których uzyskany wynik testu CEDIA Buprenorphine II był dodatni z powodu wykrycia metabolitów buprenorfiny.

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

** < LLOQ: dolna granica oznaczalności (0,65 ng/ml), > ULOQ: górna granica oznaczalności (1000 ng/ml);

*** Bup: buprenorfina;

NorBup: norbuprenorfina;

† Bup-Glu: buprenorfino-β-D-glukuronid;

‡ NorBup-Glu: norbuprenorfino-β-D-glukuronid;

‡‡ Dodatkowa niezgodna próbka w trybie półilościowym

Dokładność metody analitycznej i liniowość rozcieńczeń

W celu wykazania liniowości rozcieńczeń na potrzeby rozcieńczania próbek i kontroli jakości w całym zakresie oznaczania do moczu wolnego od leku dodano kalibrator o wysokim stężeniu buprenorfiny (100 ng/ml) i rozcieńczono go moczem wolnym od leku, uzyskując 10 stężeń pośrednich. Każdą próbkę przebadano w 5 powtórzeniach w trybie półilościowym, a następnie użyto średnich wartości wyników do ustalenia procentowej miary zgodności z oczekiwaną wartością docelową. Poniżej przedstawiono dane reprezentatywne.

Buprenorfina		Zgodność (%)
Stężenie oczekiwane (ng/ml)	Stężenie zaobserwowane (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

Swoistość

Reaktywność krzyżową buprenorfiny i jej metabolitów oceniono poprzez dodanie znanych ilości każdego z analizów do moczu wolnego od leku. Zgodnie z wynikami zawartymi w poniższej tabeli buprenorfina, norbuprenorfina oraz norbuprenorfino-glukuronid wykazały reaktywność krzyżową ≥ 100%. Buprenorfino-glukuronid wykazał niższą reaktywność krzyżową.

Buprenorfina i jej metabolity	Stężenie badane (ng/ml)	Dod/Uje	Reaktywność krzyżowa (%)
Buprenorfina	10	Dod	100
Norbuprenorfina	8	Dod	125
Buprenorfino-β-D-glukuronid	13	Dod	76,9
Norbuprenorfino-β-D-glukuronid	10	Dod	100

Reaktywność krzyżowa pokrewnych i niepokrewnych strukturalnie związków opioidowych

Strukturalnie pokrewne związki i inne opiaty	Stężenie badane (ng/ml)	Dod/Uje	Reaktywność krzyżowa (%)
6-acetylmorfina	100 000	Uje	< 0,01
Diacetylmorfina (heroina)	100 000	Uje	< 0,01
Kodeina	100 000	Uje	< 0,01
Dekstrometorfan	100 000	Uje	< 0,01
Dihydrokodeina	100 000	Uje	< 0,01
EDDP (2-etylideno-1,5-dimetylo-3,3-difenylpirolidyna)	100 000	Uje	< 0,01
EMDP (2-etylo-5-metylo-3,3-difenylpirolina)	100 000	Uje	< 0,01
Fentanyl	100 000	Uje	< 0,01
Hydrokodon	100 000	Uje	< 0,01
Hydromorfon	100 000	Uje	< 0,01
Hydromorfono-β-D-glukuronid	10 000	Uje	< 0,1
LAAM (L-alfa-acetylmotadol)	100 000	Uje	< 0,01
Leworfanol	100 000	Uje	< 0,01
Metadon	100 000	Uje	< 0,01
Meperydyna	100 000	Uje	< 0,01
Morfina	100 000	Uje	< 0,01
Morfino-3β-D-glukuronid	100 000	Uje	< 0,01
Morfino-6β-D-glukuronid	100 000	Uje	< 0,01
Nalorfina	100 000	Uje	< 0,01

Tabela — ciąg dalszy

Strukturalnie pokrewne związki i inne opiaty	Stężenie badane (ng/ml)	Dod/Uje	Reaktywność krzyżowa (%)
Nalokson	100 000	Uje	< 0,01
Naltrekson	100 000	Uje	< 0,01
Norkodeina	100 000	Uje	< 0,01
Norhydrokodon	100 000	Uje	< 0,01
Norpropoksyfen	100 000	Uje	< 0,01
Noroksykodon	100 000	Uje	< 0,01
Noroksymorfon	100 000	Uje	< 0,01
Oksymorfono-β-D-glukuronid	10 000	Uje	< 0,1
Oksykodon	100 000	Uje	< 0,01
Oksymorfon	100 000	Uje	< 0,01
Tapentadol	100 000	Uje	< 0,01
Tramadol	100 000	Uje	< 0,01

Potencjalną reaktywność krzyżową leków powszechnie podawanych w skojarzeniu z buprenorfiną oceniono poprzez dodanie każdej z substancji do buprenorfiny dodanej do próbek kontrolnych o niskim (7,5 ng/ml) i wysokim (12,5 ng/ml) stężeniu, uzyskując wskazane stężenia tych substancji. Uznawano, że dany lek reagował krzyżowo, jeśli zaobserwowane stężenia buprenorfiny przekraczały 10 ng/ml. Jak pokazano w tabeli poniżej, wszystkie ocenione kombinacje leków wykazywały niewielką reaktywność krzyżową w badanych stężeniach.

Strukturalnie niepokrewne związki dodane w podanych niżej stężeniach do próbek kontrolnych o niskim i wysokim stężeniu

Związki wchodzące w reakcję krzyżową	Stężenie dodane (ng/ml)	Poziom dodanej buprenorfiny	
		Materiał kontrolny — poziom niski	Materiał kontrolny — poziom wysoki
Paracetamol	500 000	Uje	Dod
Kwas acetylosalicylowy	500 000	Uje	Dod
Amitryptylina	50 000	Uje	Dod
Amoksylicyna	100 000	Uje	Dod
Amfetamina	1 000 000	Uje	Dod
Amisulpryd	100 000	Uje	Dod
Benzoiokgonina	1 000 000	Uje	Dod
Kofeina	100 000	Uje	Dod
Karbamazepina	100 000	Uje	Dod
Chloropromazyna	100 000	Uje	Dod
Klomipramina	25 000	Uje	Dod
Chlorochina	100 000	Uje	Dod
Cymetydyna	500 000	Uje	Dod
Dezypramina	10 000	Uje	Dod
Doksepina	25 000	Uje	Dod
Difenohydramina	100 000	Uje	Dod
Efedryna	100 000	Uje	Dod
Fluoksetyna	100 000	Uje	Dod
Flufenazyna	100 000	Uje	Dod
Hydroksychlorochina	100 000	Uje	Dod
Ibuprofen	100 000	Uje	Dod
Imipramina	25 000	Uje	Dod
Maprotylina	100 000	Uje	Dod
Mitraginina	100 000	Uje	Dod
7-hydroksymitraginina	10 000	Uje	Dod
Nalbufina	100 000	Uje	Dod
Nortryptylina	50 000	Uje	Dod
Oksazepam	100 000	Uje	Dod
Fencyklidyna	100 000	Uje	Dod
Fenobarbital	100 000	Uje	Dod

Tabela — ciąg dalszy

Związki wchodzące w reakcję krzyżową	Stężenie dodane (ng/ml)	Poziom dodanej buprenorfiny	
		Materiał kontrolny — poziom niski	Materiał kontrolny — poziom wysoki
Ranitydyna	500 000	Uje	Dod
Sekobarbital	100 000	Uje	Dod
Sulpiryd	100 000	Uje	Dod
Tiorydazyna	100 000	Uje	Dod
Trimipramina	25 000	Uje	Dod

Zakłócenia

Potencjalny wpływ poziomu pH i endogennych substancji fizjologicznych na zgodność stężeń buprenorfiny przy użyciu testu CEDIA Buprenorphine II Assay oceniono poprzez dodawanie znanych związków substancji potencjalnie zakłócających do próbek kontrolnych o niskim (7,5 ng/ml) i wysokim (12,5 ng/ml) stężeniu do uzyskania wartości odczytu wynoszącej 10 ng/ml. W obecności wymienionych poniżej związków próbki kontrolne wykrywane były z odpowiednią dokładnością, co wskazuje, że związki te nie zakłócały oznaczenia.

Związek	Stężenie badane (mg/dl)	Poziom dodanej buprenorfiny	
		Materiał kontrolny — poziom niski	Materiał kontrolny — poziom wysoki
Paracetamol	10	Uje	Dod
Aceton	500	Uje	Dod
Kwas acetylosalicylowy	10	Uje	Dod
Kwas askorbinowy	150	Uje	Dod
Kofeina	10	Uje	Dod
Kreatynina	400	Uje	Dod
Etanol	10	Uje	Dod
Galaktoza	5	Uje	Dod
Glukoza	1000	Uje	Dod
Hemoglobina	150	Uje	Dod
Albumina surowicy ludzkiej	200	Uje	Dod
Ibuprofen	10	Uje	Dod
Kwas szczawiovowy	50	Uje	Dod
Ryboflawina	3	Uje	Dod
Chlorek sodu	1000	Uje	Dod
Mocznik	1000	Uje	Dod
pH	3	Uje	Dod
pH	4	Uje	Dod
pH	5	Uje	Dod
pH	6	Uje	Dod
pH	7	Uje	Dod
pH	8	Uje	Dod
pH	9	Uje	Dod
pH	10	Uje	Dod
pH	11	Uje	Dod

Ciężar właściwy

Wolne od leku próbki moczu o ciężarze właściwym od 1,002 do 1,030 podzielono, a następnie dodano do nich buprenorfine do uzyskania stężeń końcowych 7,5 ng/ml lub 12,5 ng/ml (próbki kontrolne o odpowiednio niskim i wysokim stężeniu). Próbki te następnie przebadano w trybach jakościowym i półilościowym. Nie zaobserwowano zakłóceń.

Ciężar właściwy	Poziom dodanej buprenorfiny	
	Materiał kontrolny — poziom niski	Materiał kontrolny — poziom wysoki
1,002	Uje	Dod
1,004	Uje	Dod
1,008	Uje	Dod
1,013	Uje	Dod
1,016	Uje	Dod
1,018	Uje	Dod
1,022	Uje	Dod
1,023	Uje	Dod
1,025	Uje	Dod
1,030	Uje	Dod

Bibliografia

1. *Mandatory Guideline for Federal Workplace Drug Testing Programs*. National Institute on Drug Abuse. Federal Register Vol. 73, No. 228, 2008:71893.
2. Baselt, RC: Disposition of toxic drugs and chemicals in man. 5th edition. 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, Petermell 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)*, marzec 2000 r.; 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, 22 maja 2003 r.; 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 Clin 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. Dane zgromadzone przez firmę Microgenics Corporation należąca do firmy Thermo Fisher Scientific, 2003 r.
12. C52-A2, Toxicology and Drug Testing in the Clinical Laboratory; Approved Guideline – Second Edition, *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (kwiecień 2007 r.).
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 (kwiecień 2006 r.).
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 czerwca):11983.

Słowniczek:

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



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 USA
Bezpłatna infolinia w USA:
1-800-232-3342



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

© 2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.
CEDIA® jest zastrzeżonym znakiem towarowym firmy Roche Diagnostics.



Aktualną wersję ulotki można pobrać z witryny:
www.thermofisher.com/diagnostics

10020852-2-PL
2020 06

thermo
scientific