

SOSTANZE D'ABUSO SU SANGUE IN LC-MS/MS

REF LC89010

6-MONOACETILMORFINA, 11-OH-THC, AMFETAMINA, BENZOILECGONINA (BEG), BUPRENORFINA, COCAETILENE, COCAINA, CODEINA, Δ -9-THC, Δ -9-THC-COOH, ECGONINA METILESTERE (EME), EDDP, FENTANIL, KETAMINA, MBDB, MDA, MDE, MDMA, METADONE, METAMFETAMINA, MORFINA, NORBUPRENORFINA

QUESTO PRODOTTO ADEMPIE A TUTTE LE ESIGENZE DELLA DIRETTIVA 98/79/CE SUI DISPOSITIVI MEDICO-DIAGNOSTICI IN VITRO (IVD). LA DICHIARAZIONE DI CONFORMITÀ CE È DISPONIBILE SU RICHIESTA.



ISTRUZIONI PER L'USO



Per uso diagnostico *in vitro*



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com

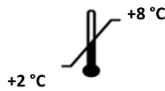
INDICE

DESTINAZIONE D'USO	3
CONTENUTO DEL KIT PER 100 TESTS	3
ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE	4
STRUMENTAZIONE	4
MATRICE - PROCEDURA DI RACCOLTA E DI CONSERVAZIONE	4
VALORI DI RIFERIMENTO	5
PROCEDURA ANALITICA	6
GRADIENTE E POSIZIONE VALVOLA	7
• Gradiente per sostanze d'abuso basiche	7
• Posizione valvola DIVERT per sostanze d'abuso basiche	7
• Gradiente per cannabinoidi	8
• Posizione valvola DIVERT per cannabinoidi	8
PARAMETRI	9
FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DEGLI STANDARD INTERNI DEUTERATI	10
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I	11
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II	13
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III	14
RECUPERO	15
CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO	16
AVVERTENZE GENERALI	19
ABBREVIAZIONI	20
BIBLIOGRAFIA	21
NORME DI RIFERIMENTO	22
SIMBOLI IVD	23

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico diagnostico in vitro per la rivelazione e la determinazione quantitativa di 6-MONOACETILMORFINA, 11-OH-THC, AMFETAMINA, BENZOILECGONINA (BEG), BUPRENORFINA, COCAETILENE, COCAINA, CODEINA, Δ -9-THC, Δ -9-THC-COOH, ECGONINA METILESTERE (EME), EDDP, FENTANIL, KETAMINA, MBDB, MDA, MDE, MDMA, METADONE, METAMFETAMINA, MORFINA, NORBUPRENORFINA su sangue intero per attività di diagnostica clinica e per uso forense. Metodo manuale per uso professionale.

CONTENUTO DEL KIT PER 100 TESTS

CONTENUTO	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO	AVVERTENZE
Reagente A	Soluzione Deproteinizzante	6 x 5 ml	
Reagente B	Soluzione Standard Interni Deuterati	1 x 300 µl	
Reagente C	Soluzione Diluente	1 x 10 ml	
Calibratore su sangue intero		7 x 3 x 1 ml	(confezionato separatamente – Codice LC89016 - vedi scheda tecnica)
Reagente M1	Fase Mobile M1	2 x 500 ml	
Reagente M2	Fase Mobile M2	2 x 500 ml	

ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO
LC89016	Calibratore su sangue per sostanze d'abuso	7 x 2 x 1 ml
LC89019	Controllo su sangue per sostanze d'abuso – Livelli 1, 2 e 3	3 x 5 x 1 ml
SK89010	Starter kit per sostanze d'abuso su sangue	39 x 1 ml
LC89011	Fase mobile M1	4 x 500 ml
LC89021	Fase mobile M2	4 x 500 ml
LC89030	Soluzione Standard interni deuterati	1 x 300 µl
Z959757902	Colonna analitica RRHD C 18 (50 x 2,1 mm – 1,8 µm)	1 Pz
TF2540301201	Prefiltri Hypersil Gold PFP (10 x 2,1 mm – 3 µm)	1 x 4 Pz
S51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 Pz
S51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 Pz
TF84200	Drop in Holder 2 mm	1 Pz
L-30-210	Eppendorf da 1,5 ml con tappo	1 x 1000 Pz

STRUMENTAZIONE

DESCRIZIONE	AVVERTENZE
Strumento LC-MS triplo quadrupolo alto livello con valvola Divert-Analisi in gradiente binario – Modalità di lavoro ESI	Necessario
Computer gestionale	Necessario
Autocampionatore	Necessario

MATRICE - PROCEDURA DI RACCOLTA E DI CONSERVAZIONE

MATRICE	PROCEDURA
Sangue intero	Provetta con anticoagulante EDTA. Stabile per circa 4 settimane a $+2^{\circ}\text{C}$  $+8^{\circ}\text{C}$ oppure 4 mesi a -15°C  -25°C

VALORI DI RIFERIMENTO

Concentrazioni di sostanze in sangue che definiscono i REQUISITI MINIMI DI PRESTAZIONE per l'analisi di conferma, a scopo tossicologico-forense, mediante tecniche cromatografiche abbinate alla spettrometria di massa.

CLASSE DI SOSTANZE O SOSTANZA TARGET PER LO SCREENING	REQUISITI MINIMI DI PRESTAZIONE (ng/ml)
Opiacei Morfina Totale ^a Codeina Totale ^a 6-Monoacetilmorfina	2
Cocaina Cocaina Benzoilecgonina Cocaetilene Norcocaina	2
Amfetamina e congeneri Amfetamina Metamfetamina	2
3,4-Metilenediossimetamfetamina e congeneri MDMA MDA MDE MBDB	2
Metadone Metadone EDDP	2
Cannabinoidi THC 11-OH-THC THC-COOH	1 0,1 2
Buprenorfina Buprenorfina totale ^a Norbuprenorfina totale ^a	2

a- il valore è riferito al campione sottoposto a idrolisi

Rif. LINEE GUIDA PER LE STRUTTURE DOTATE DI LABORATORI PER GLI ACCERTAMENTI DI SOSTANZE D'ABUSO CON FINALITA' TOSSICOLOGICO-FORENSE E MEDICO-LEGALI SU CAMPIONI BIOLOGICI PRELEVATI DA VIVENTE

Revisione n. 5 del 29 maggio 2017 a cura della Commissione Qualità dell'Associazione Scientifica "Gruppo Tossicologi Forensi Italiani" (GTFI)

PROCEDURA ANALITICA

Principio del metodo: Il presente metodo consente di determinare un ampio pacchetto di sostanze d'abuso su sangue dopo deproteinizzazione e lettura in LC-MS/MS.

FASE	DESCRIZIONE																				
1	Preparazione dei campioni Dispensare 50 µl di Reagente B ad ogni flacone da 5 ml di Reagente A in base all'utilizzo previsto.  - 15 °C Stabile 3 mesi a  - 25 °C . In eppendorf dispensare in sequenza <table><tr><td></td><td>Calibratore (µl)</td><td>Campione (µl)</td><td>Controllo (µl)</td></tr><tr><td>Calibratore</td><td>100</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Campione</td><td></td><td>100</td><td></td></tr><tr><td>Controllo</td><td></td><td></td><td>100</td></tr><tr><td>Reagente A come da fase precedente</td><td>300</td><td>300</td><td>300</td></tr></table> Vortex per 30 secondi alla velocità massima Riporre le provette eppendorf per 15 minuti in frigorifero.		Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controllo (µl)	Calibratore	100			Campione		100		Controllo			100	Reagente A come da fase precedente	300	300	300
	Calibratore (µl)	Campione (µl)	Controllo (µl)																		
Calibratore	100																				
Campione		100																			
Controllo			100																		
Reagente A come da fase precedente	300	300	300																		
2	Centrifugare a 14.000 rpm per 20 minuti.																				
3	Diluizione del campione <u>Per le sole sostanze d'abuso basiche:</u> Diluire il campione: 50 µl di surnatante + 100 µl di Reagente C Vortex per 10 secondi																				
Iniezione	Per le sostanze d'abuso basiche: iniettare 20 µl del campione sopra diluito Per i cannabinoidi: iniettare 50 µl del surnatante. In alternativa iniettare un volume differente in funzione della sensibilità del proprio sistema																				

GRADIENTE E POSIZIONE VALVOLA

- Gradiente per sostanze d'abuso basiche**

SISTEMA UHPLC [Colonna analitica RRHD C18 (50 x 2,1 mm – 1,8 µm)]

TEMPO (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (µl/min)
0.0	95	5	0.4
3.0	95	5	0.4
3.1	80	20	0.4
5.5	70	30	0.4
5.6	45	55	0.4
8.0	2	98	0.4
9.5	2	98	0.4
9.6	95	5	0.4
12.0	95	5	0.4

- Posizione valvola DIVERT per sostanze d'abuso basiche**

SISTEMA UHPLC [Colonna analitica RRHD C18 (50 x 2,1 mm – 1,8 µm)]

TEMPO (min)	POSIZIONE
0.0	A
3.0	B
9.5	A

- Gradiente per cannabinoidi**

SISTEMA UHPLC [Colonna analitica RRHD C18 (50 x 2,1 mm – 1,8 µm)]

TEMPO (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (µl/min)
0.0	95	5	0.5
0.3	95	5	0.5
0.35	40	60	0.5
5.0	0	100	0.5
8.0	0	100	0.5
8.1	95	5	0.5
10.0	95	5	0.5

- Posizione valvola DIVERT per cannabinoidi**

SISTEMA UHPLC [Colonna analitica RRHD C18 (50 x 2,1 mm – 1,8 µm)]

TEMPO (min)	POSIZIONE
0.0	A
0.5	B
8.0	A

PARAMETRI

Parametri settati su triplo quadrupolo SCIEX 4500

	PARAMETRI SOSTANZE D'ABUSO BASICHE ESI POSITIVO	PARAMETRI CANNABINOIDI ESI POSITIVO	PARAMETRI CANNABINOIDI ESI NEGATIVO
CURTAIN GAS (CUR)	40	40	40
COLLISION GAS (CAD)	10	10	10
ION SPRAY VOLTAGE (IS)	5500 V	4500 V	-4500 V
TEMPERATURE (TEM)	650°C	650°C	650°C
ION SOURCE GAS 1 (GS1)	45	45	45
ION SOURCE GAS 2 (GS2)	55	55	55

FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DEGLI STANDARD INTERNI DEUTERATI

ANALITI	RT	FRAMMENTI		STANDARD INTERNI DEUTERATI USATI PER LA CALIBRAZIONE	RT	FRAMMENTI	
		PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)			PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)
6-MAM	4.6	328.0	165.0	6-MAM-D6	4.6	334.2	211.0
11-OH-THC	2.6	331.2 (+)	201.1	11-OH-THC-D3	2.6	334.2 (+)	316.2
Amfetamina	4.5	136.1	91.0	Amfetamina-D11	4.5	147.2	98.0
BEG	5.6	290.0	108.1	BEG-D8	5.6	298.0	171.0
Buprenorfina	6.6	468.3	396.1	Norbuprenorfina-D3	6.5	417.3	187.0
Cocaetilene	6.4	318.1	196.1	Cocaetilene-D3	6.4	321.2	199.0
Cocaina	6.2	304.2	182.2	Cocaina-D3	6.2	307.1	185.0
Codeina	4.2	300.1	165.1	Codeina-D6	4.2	306.0	165.2
Δ -9-THC	3.4	315.1 (+)	193.2	Δ -9-THC-D3	3.4	318.2 (+)	123.2
Δ -9-THC-COOH	2.7	343.2 (-)	191.1	Δ -9-THC-COOH-D9	2.7	352.1 (-)	254.3
Ecgonina Metil Estere	0.4	200.4	82.0	BEG-D8	5.6	298.0	171.0
EDDP	6.6	278.1	234	EDDP-D3	6.6	281.2	234.0
Fentanil	6.8	337.0	18.2	EDDP-D3	6.6	281.2	234.0
Ketamina	5.7	238.0	220.0	MDE-D5	5.2	213.2	163.0
MBDB	5.6	208.1	177.0	MDMA-D5	4.8	199.0	135.0
MDA	4.7	180.0	105.2	MDA-D5	4.7	185.0	138.0
MDE	5.2	208.0	153.1	MDE-D5	5.2	213.2	163.0
MDMA	4.8	194.0	153.1	MDMA-D5	4.8	199.0	135.0
Metadone	6.9	310.2	265.1	Metadone-D9	6.9	319.2	268.0
Metamfetamina	4.6	150.1	119.1	Metamfetamina-D11	4.6	161.1	127.2
Morfina	2.3	286.1	165.1	Morfina-D6	2.3	292.3	181.0
Norbuprenorfina	6.5	414.3	117.1	Norbuprenorfina-D3	6.5	417.3	187.0

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I

CONCENTRAZIONI	DEFINIZIONI
C1	Concentrazione bassa
C2	Concentrazione media
C3	Concentrazione alta

ANALITI	CONCENTRAZIONI USATE PER CALCOLARE LA RIPRODUCIBILITÀ E L'ACCURATEZZA (ng/ml)		
	C1	C2	C3
6-MAM	5	20	60
11-OH-THC	0,8	2	7,5
Amfetamina	10	30	120
BEG	12	36	144
Buprenorfina	2,5	10	24
Cocaetilene	5	20	60
Cocaina	5	20	60
Codeina	5	20	60
Δ -9-THC	3	12	24
Δ -9-THC-COOH	2,5	10	24
Ecgonina Metil Estere	5	20	60
EDDP	5	20	60
Fentanil	5	10	20
Ketamina	10	30	120
MBDB	10	30	120
MDA	10	30	120
MDE	10	30	120
MDMA	10	30	120
Metadone	5	20	60
Metamfetamina	10	30	120
Morfina	2,5	10	40
Norbuprenorfina	2,5	10	24

ANALITI	ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %)		
	C1	C2	C3
6-MAM	8,60	4,29	1,95
11-OH-THC	2,02	3,90	1,96
Amfetamina	1,80	4,80	3,40
BEG	1,45	2,74	2,56
Buprenorfina	5,75	4,43	7,12
Cocaetilene	5,13	6,86	1,36
Cocaina	7,23	8,51	3,38
Codeina	6,84	2,80	1,35
Δ -9-THC	6,74	3,58	6,82
Δ 9-THC-COOH	5,79	1,90	4,29
Ecgonina Metil Estere	13,08	11,87	3,65
EDDP	2,19	1,65	3,22
Fentanil	4,70	5,0	2,82
Ketamina	7,4	4,98	*
MBDB	5,42	3,33	3,15
MDA	3,10	5,43	2,76
MDE	5,05	2,41	3,43
MDMA	3,76	3,51	4,05
Metadone	7,51	3,39	2,27
Metamfetamina	3,76	6,10	4,75
Morfina	1,19	5,51	2,50
Norbuprenorfina	0,87	11,59	2,84

* valore non disponibile

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II

ANALITI	RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)			RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)		
	C1	C2	C3	C1	C2	C3
6-MAM	4,45	1,16	1,42	5,98	5,31	3,78
11-OH-THC	7,58	0,97	5,12	12,23	3,75	11,75
Amfetamina	7,03	0,45	1,61	6,60	3,48	5,52
BEG	1,84	0,39	2,17	5,80	4,73	3,83
Buprenorfina	3,00	4,78	1,49	7,60	10,02	11,37
Cocaetilene	2,43	1,75	0,83	7,68	5,66	4,06
Cocaina	4,90	2,97	0,84	6,96	8,15	8,60
Codeina	2,98	1,92	3,00	8,27	4,76	4,83
Δ -9-THC	3,80	5,28	6,77	8,20	3,35	8,09
Δ -9-THC-COOH	1,77	1,11	5,82	9,00	6,67	8,55
Ecgonina Metil Estere	2,10	2,46	3,11	7,35	6,06	5,65
EDDP	2,49	1,59	3,61	8,40	2,94	4,05
Fentanil	2,49	2,75	0,75	9,28	7,27	7,30
Ketamina	4,47	5,41	2,10	4,74	10,37	4,15
MBDB	1,39	2,97	2,15	7,13	3,35	5,42
MDA	4,02	1,33	4,15	12,59	7,20	5,10
MDE	5,42	2,92	1,38	11,99	4,81	3,90
MDMA	7,03	1,49	5,82	8,74	4,95	8,96
Metadone	4,08	1,61	1,42	7,78	9,44	2,61
Metamfetamina	7,03	1,49	3,48	11,17	10,43	19,46
Morfina	6,01	3,45	5,62	7,46	6,25	6,84
Norbuprenorfina	2,81	3,30	1,49	7,60	9,15	11,65

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III

ANALITI	LLOD (ng/ml)	COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R2 + DEV STD
6-MAM	0,05	0,9970 ± 0,0037
11-OH-THC	0,02	0,9966 ± 0,0028
Amfetamina	0,05	0,9998 ± 0,0003
BEG	0,1	0,9998 ± 0,0002
Buprenorfina	0,02	0,9989 ± 0,0009
Cocaetilene	0,01	0,9998 ± 0,0003
Cocaina	0,02	0,9979 ± 0,0013
Codeina	0,05	0,9998 ± 0,0001
Δ-9-THC	0,03	0,9987 ± 0,0012
Δ-9-THC-COOH	0,05	0,9986 ± 0,0010
Ecgonina Metil Estere	0,05	0,9934 ± 0,0039
EDDP	0,05	0,9997 ± 0,0001
Fentanil	0,3	0,9988 ± 0,0007
Ketamina	0,1	0,9940 ± 0,0044
MBDB	0,05	0,9999 ± 0,0000
MDA	0,1	0,9992 ± 0,0007
MDE	0,1	0,9997 ± 0,0003
MDMA	0,1	0,9997 ± 0,0001
Metadone	0,05	0,9997 ± 0,0002
Metamfetamina	0,05	0,9989 ± 0,0010
Morfina	0,1	0,9944 ± 0,0044
Norbuprenorfina	0,02	0,9979 ± 0,0016

RECUPERO

ANALITI	RECUPERO CALIBRATORE (%)		
	C1	C2	C3
6-MAM	97,91	105,42	99,44
11-OH-THC	129,59	121,96	133,38
Amfetamina	111,21	112,38	119,69
BEG	106,46	110,40	105,74
Buprenorfina	456,57	147,77	144,98
Cocaetilene	95,01	106,66	98,39
Cocaina	98,16	109,59	109,27
Codeina	99,42	105,81	98,28
Δ -9-THC	144,31	127,18	141,70
Δ -9-THC-COOH	98,00	97,36	96,38
Ecgonina Metil Estere	78,45	86,32	78,54
EDDP	88,05	80,47	80,96
Fentanil	96,32	107,86	114,70
Ketamina	*	*	*
MBDB	101,91	106,35	102,11
MDA	107,52	120,49	115,66
MDE	102,87	107,13	113,49
MDMA	100,52	106,11	110,28
Metadone	128,39	131,28	106,88
Metamfetamina	95,75	85,81	90,89
Morfina	119,03	109,70	103,14
Norbuprenorfina	108,43	118,30	115,19

*valore non disponibile

CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO

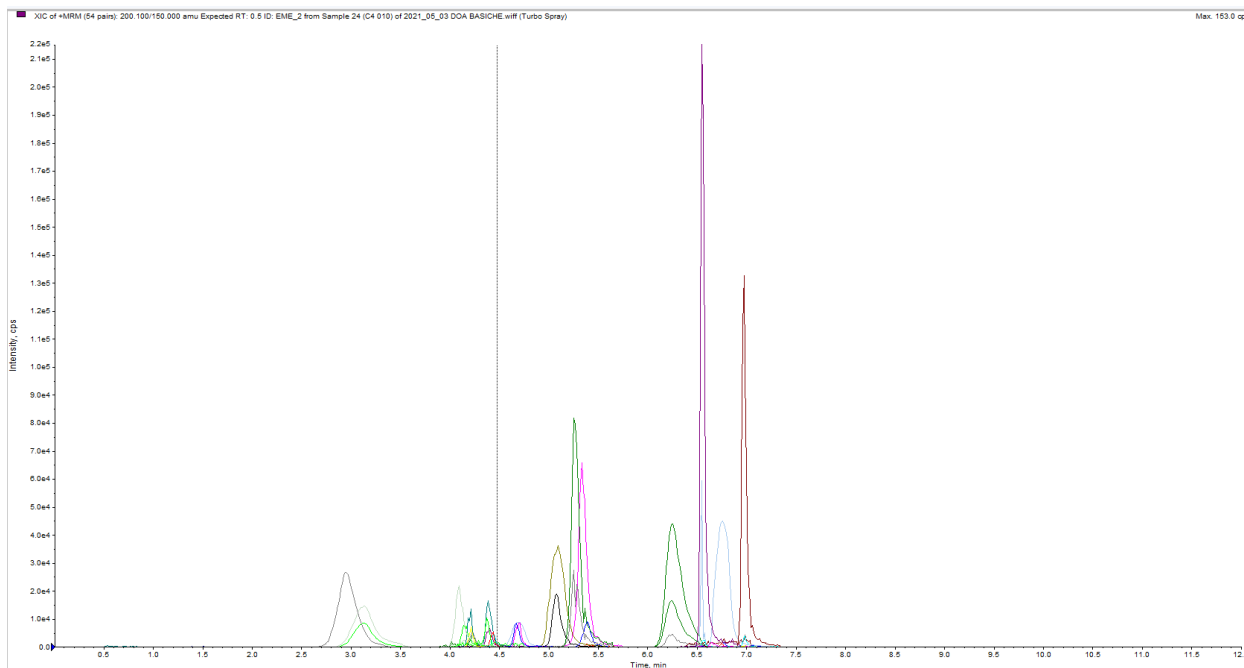


Fig 1 Calibratore Livello 4 per sostanze di abuso basiche.

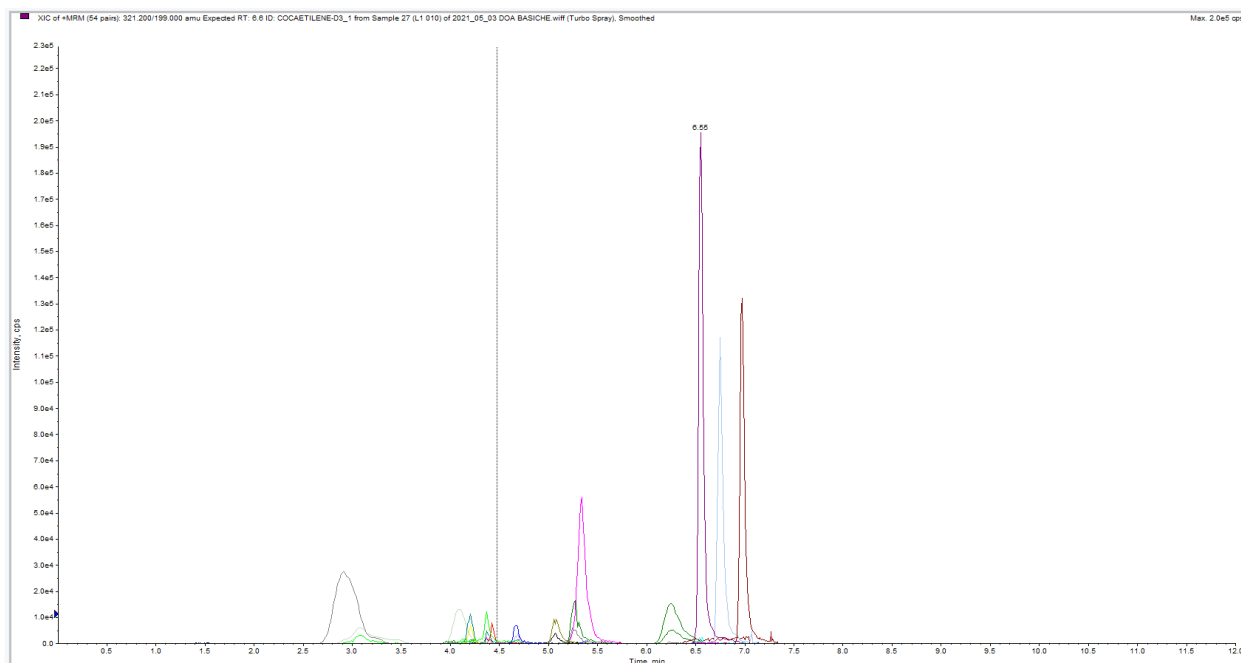


Fig 2 Controllo Livello 1 per sostanze di abuso basiche.

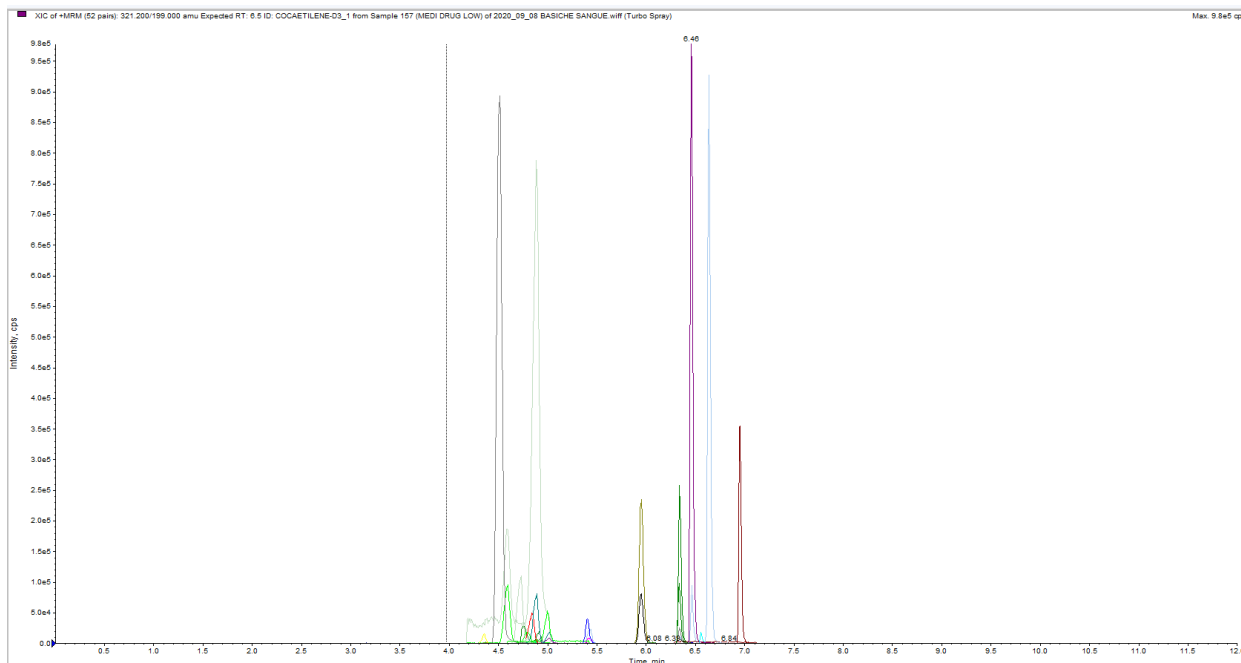


Fig 3 Campione trattato per sostanze di abuso basiche, positivo a cocaina e BEG.

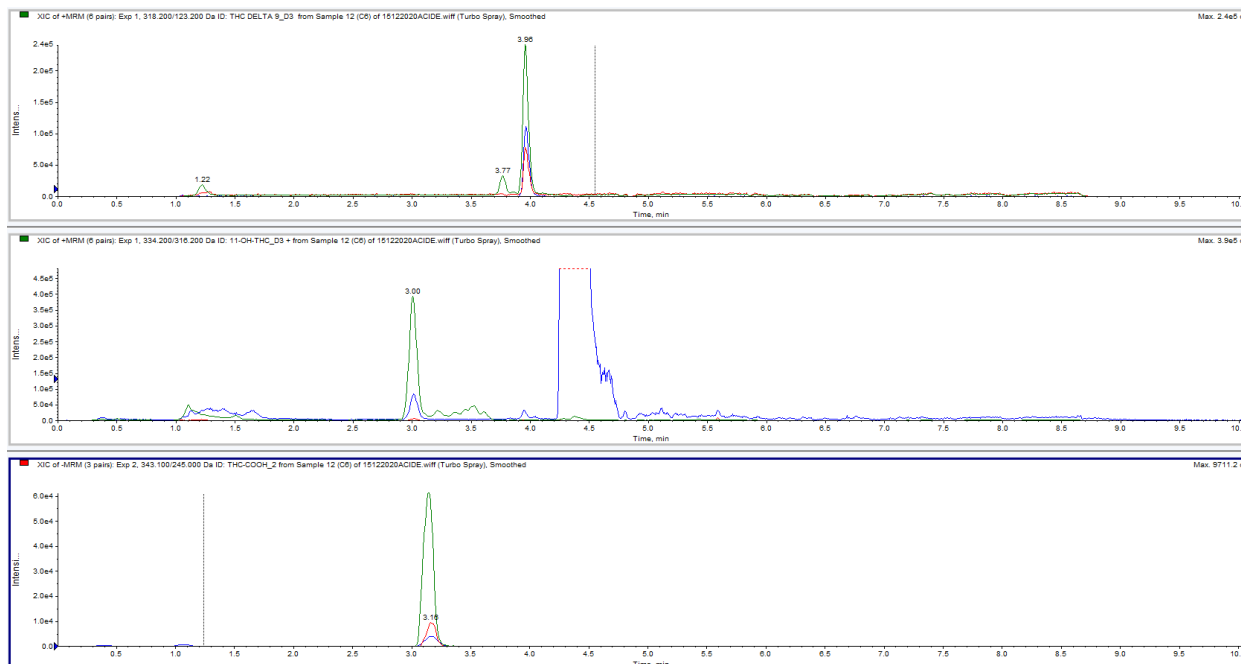


Fig 4 Calibratore livello 5 per sostanze di abuso acide (dall'alto in basso, THC, 11 OH THC, THC COOH).

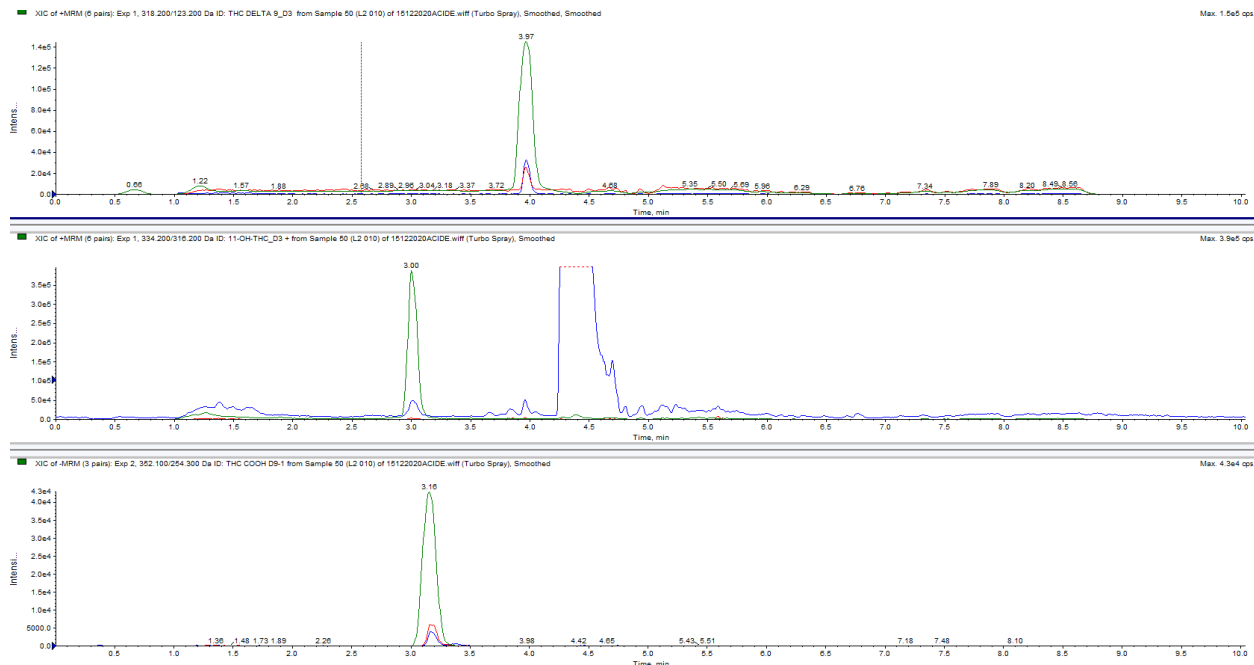


Fig 5 Controllo Livello 2 per sostanze di abuso acide (dall'alto in basso, THC, 11 OH THC, THC COOH).

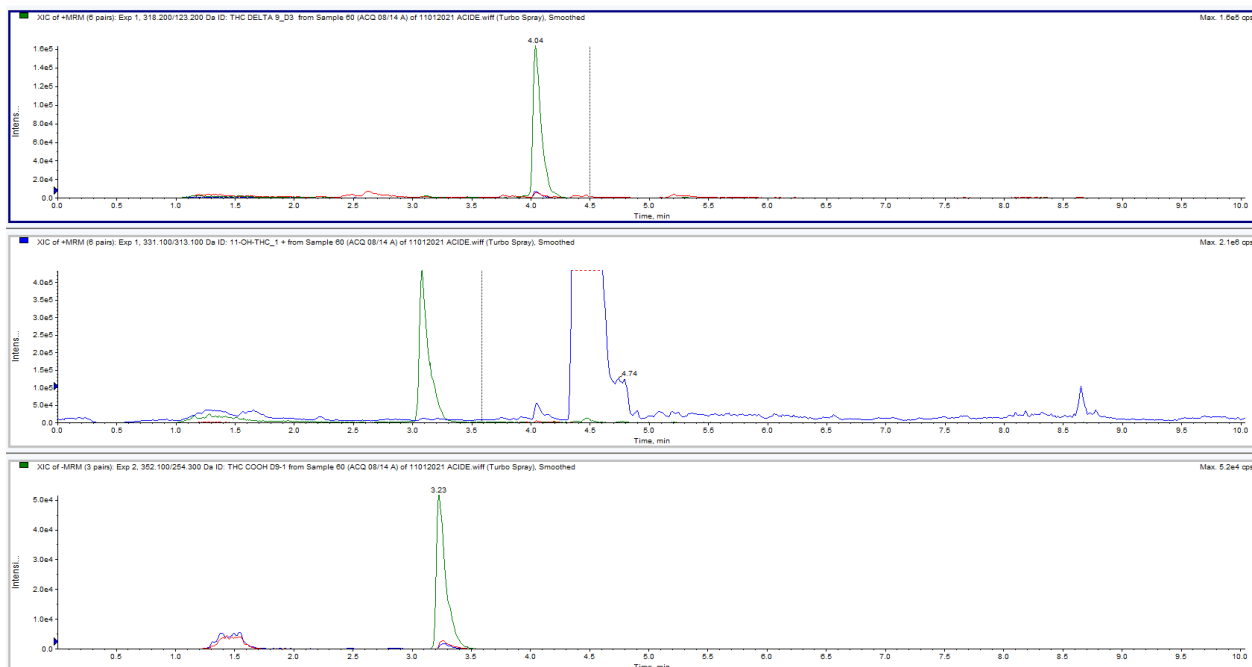


Fig 6 Campione trattato per sostanze di abuso acide, positivo a THC e THC COOH.

1. STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

ABBREVIAZIONI

ABBREVIAZIONI	DEFINIZIONI
es. 5 x 1 x 1 ml	N° di livelli x N° di vial x volume
Es. confezionamento Starter kit: 27 x 1 ml	N° di vial x volume Nota: ogni vial contiene una molecola (analita o internal standard deuterato)
MDA	3,4-Metilenediossiamfetamina
MDE	3,4-metilendiossi-N-etilfetamina
MDMA	3,4-metilenediossimetanfetamina
6-MAM	6-Monoacetilmorfina
BEG	Benzoilecgonina
Δ -9-THC-COOH	Acido carbossilico Δ -9-tetraidrocannabinolo
EDDP	2-etiliden-1,5-dimetil-3,3-difenilpirrolidina
EME	Ecgonina Metilestere
MBDB	1,3-Benzodiossolil-N-metilbutanamina
Pz	Pezzo/pezzi
RT	Tempo di Ritenzione

BIBLIOGRAFIA

1. Elisabeth Leere Øiestad, *et al.* Drug Screening of Whole Blood by Ultra-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry, *Journal of Analytical Toxicology*, 2011
2. Sylvain Dulaurent, *et al.* QuEChERS sample preparation prior to LC-MS/MS determination of opiates, amphetamines, and cocaine metabolites in whole blood, *Anal Bioanal Chem*, 2016
3. Kraig E. Strayer, *et al.* LC-MS/MS-Based Method for the Multiplex Detection of 24 Fentanyl Analogues and Metabolites in Whole Blood at Sub ng mL⁻¹ Concentrations, *ACS Omega*, 2018
4. Marie Kjærgaard Bjørk, *et al.* Determination of 19 drugs of abuse and metabolites in whole blood by high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Anal Bioanal Chem*, 2010
5. Jeff C. Eichhorst, *et al.* LC-MS/MS Techniques for High-Volume Screening of Drugs of Abuse and Target Drug Quantitation in Urine/Blood Matrices, *Methods Mol Biol.* Chapter 3, 2012

NORME DI RIFERIMENTO

Sistema Qualità conforme alle normative:

EN ISO 13485:2016

EN ISO 9001:2015

Ogni modifica apportata al Dispositivo Medico se non autorizzata da Eureka S.r.l. - Lab Division rende la presente dichiarazione non valida.

Si dichiara che i dispositivi in oggetto ottemperano alle seguenti **Norme Tecniche**:

EN ISO 13485:2016

EN ISO 13612:2002

EN ISO 14971:2012

EN ISO 15223-1:2016

EN ISO 18113-1:2011

EN ISO 18113-2:2011

Si dichiara che il dispositivo in oggetto viene commercializzato in confezione non sterile.

SIMBOLI IVD

NUMERO	SIMBOLO	DESCRIZIONE
1		Fabbricante
2		Numero di catalogo
3		Avvertenze
4		Numero di lotto del prodotto
5		Utilizzare entro
6		Consultare le istruzioni per l'uso
7		Data di fabbricazione
8		Limite di temperatura
9		Per uso diagnostico <i>in vitro</i>
10		Conformità Europea
11		Confezione