

ANTIPILETTICI plasmatici in LC-MS - Codice LC04910

(Levetiracetam, Lamotrigina, Primidone, Oxcarbazepina, Carbamazepina Epossido, Monoidrossicarbamazepina, Carbamazepina, Felbamato, Desmetilsuccimide, Rufinamide, Fenitoina, Metosuccimide, Topiramato, Fenobarbital, Acido Valproico, Etosuccimide, Lacosamide, Zonisamide)

INTRODUZIONE

Il trattamento del paziente epilettico richiede il contributo multidisciplinare di competenze mediche, farmacologiche, psicologiche e sociali. In questo contesto pertanto, la terapia farmacologica e il conseguente monitoraggio rivestono un ruolo decisivo nel controllo immediato delle crisi epilettiche e nella prevenzione a medio e lungo termine delle ricadute.

Attualmente, grazie al monitoraggio delle concentrazioni plasmatiche dei farmaci antiepilettici, è in molti casi possibile modellare la terapia sul singolo paziente.

Il presente metodo consente di determinare simultaneamente le concentrazioni sieriche e/o plasmatiche dei seguenti farmaci antiepilettici : *Levetiracetam, Lamotrigina, Primidone, Oxcarbazepina, Carbamazepina Epossido, Monoidrossicarbamazepina, Carbamazepina, Felbamato, Desmetilsuccimide, Rufinamide, Fenitoina, Metosuccimide, Topiramato, Fenobarbital, Acido Valproico, Etosuccimide, Lacosamide, Zonisamide.*

EUREKA srl – LAB DIVISION
VAT N° 01547310423
E-mail: info@eurekaone.com
www.eurekaone.com



Head Quarter:
Via Enrico Fermi 25
60033 Chiaravalle (AN) ITALY
Tel. +39 071 7450790
Fax + 39 071 7496579



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.

Release N° 001

Antiepilettici plasmatici in LC/MS

Dicembre 2012

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo :

Gli Antiepilettici vengono isolati trattando il plasma o il siero con un opportuno deproteinizzante. Dopo l'aggiunta di uno stabilizzante, la soluzione viene direttamente iniettata in HPLC.

Sensibilità del Metodo :

Levetiracetam	0,07 µg/ml
Lamotrigina	0,03 µg/ml
Primidone	0,07 µg/ml
Oxcarbazepina	0,03 µg/ml
Carbamazepina Epossido	0,02 µg/ml
Monoidrossicarbamazepina	0,07 µg/ml
Carbamazepina	0,01 µg/ml
Felbamato	0,1 µg/ml
Rufinamide	0,02 mg/l
Desmetilsuccimide	0,3 mg/l
Fenitoina	0,3 mg/l
Metosuccimide	0,3 mg/l
Topiramato	0,1 mg/l
Fenobarbital	1,5 µg/ml
Ac. Valproico	2,5 mg/l
Etosuccimide	5,0 µg/ml
Lacosamide	0,03 mg/l
Zonisamide	0,07 µg/ml

Range dinamico del metodo :

Levetiracetam	0,2 – 100 µg/ml
Lamotrigina	0,1 – 30 µg/ml
Primidone	0,2 – 30 µg/ml
Oxcarbazepina	0,1 – 100 µg/ml
Carbamazepina Epossido	0,5 – 100 µg/ml
Monoidrossicarbamazepina	0,1 – 100 µg/ml
Carbamazepina	0,02 – 30 µg/ml
Felbamato	0,3 – 150 µg/ml
Rufinamide	0,05 – 100 mg/l
Desmetilsuccimide	1 – 100 mg/l
Fenitoina	0,8 – 50 mg/l
Metosuccimide	1 – 100 mg/l
Topiramato	0,3 – 100 mg/l
Fenobarbital	5 – 100 µg/ml
Ac. Valproico	10 – 200 mg/l
Etosuccimide	20 – 150 µg/ml
Lacosamide	0,1 – 30 mg/l
Zonisamide	0,2 – 100 µg/ml

CV% :

Levetiracetam	5,95% intra serie	7,62% inter serie
Lamotrigina	6,46% intra serie	6,48% inter serie
Primidone	5,18% intra serie	5,72% inter serie
Oxcarbazepina	5,58% intra serie	6,49% inter serie
Carbamazepina Epossido	4,32% intra serie	4,88% inter serie
Monoidrossicarbamazepina	6,39% intra serie	7,89% inter serie
Carbamazepina	6,53% intra serie	7,37% inter serie
Felbamato	5,68% intra serie	6,25% inter serie
Rufinamide	5,40% intra serie	5,92% inter serie
Desmetilsuccimide	5,60% intra serie	9,23% inter serie
Fenitoina	6,45% intra serie	9,96% inter serie
Metosuccimide	5,60% intra serie	9,23% inter serie
Topiramato	7,24% intra serie	7,79% inter serie
Fenobarbital	6,17% intra serie	6,33% inter serie
Ac. Valproico	3,28% intra serie	3,40% inter serie
Etosuccimide	2,79% intra serie	3,10% inter serie
Lacosamide	5,79% intra serie	9,17% inter serie
Zonisamide	4,40% intra serie	4,96% inter serie

<u>Range terapeutico nel plasma :</u>	Levetiracetam	10 – 37 µg/ml
	Lamotrigina	3 – 14 µg/ml
	Primidone	5 – 12 mg/l
	Oxcarbazepina	0 – 4 mg/l
	Carbamazepina Epossido	2 – 4 mg/l
	Monoidrossicarbamazepina	3 – 40 µg/ml
	Carbamazepina	6 – 12 mg/l
	Felbamato	10 – 80 mg/l
	Rufinamide	1 – 50 mg/l
	Desmetilsuccimide	10 – 40 mg/l
	Fenitoina	10 – 20 mg/l
	Metosuccimide	10 – 40 mg/l
	Topiramato	2 – 25 mg/l
	Fenobarbital	10 – 40 mg/l
	Ac. Valproico	40 – 100 mg/l
	Etosuccimide	40 – 100 µg/ml
	Lacosamide	1 – 10 mg/l
	Zonisamide	10 – 38 µg/ml

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2 - 8 °C.

Reagente A – Soluzione Deproteinizzante con Standard Interni, **1 x 20 ml**

Reagente B – Soluzione Stabilizzante, **1 x 10 ml**

Reagente C1 – Calibratore liofilo plasmatico – Livello 1, **1 x 1 ml** **Vedere Avvertenze**

Reagente C2 – Calibratore liofilo plasmatico – Livello 2, **1 x 1 ml** **Vedere Avvertenze**

Reagente C3 – Calibratore liofilo plasmatico – Livello 3, **1 x 1 ml** **Vedere Avvertenze**

Reagente C4 – Calibratore liofilo plasmatico – Livello 4, **1 x 1 ml** **Vedere Avvertenze**

Reagente C5 – Calibratore liofilo plasmatico – Livello 5, **1 x 1 ml** **Vedere Avvertenze**

Reagente M1 – Fase Mobile A, **1 x 500 ml**

Reagente M2 – Fase Mobile B, **1 x 500 ml**

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento LC-MS triplo quadrupolo –
Modalità di lavoro MRM, ESI
positivo/negativo
Computer gestionale

Dotazione opzionale :

Autocampionatore

Modalità di prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta senza gel per il siero o con Eparina come anticoagulante per il plasma.
Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti.
Separare il siero e stoccarlo a – 20 °C.
Stabile 4 settimane.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparazione dei Campioni

Dispensare in provette coniche da 1,5 ml tipo Eppendorf con tappo :

	Calibratore	Campione	Controllo
Reagente C - Calibratore liofilo	100 µl		
Campione		100 µl	
Controllo			100 µl
Reagente A - Deproteinizzante con Standard Interni	200 µl	200 µl	200 µl

Attenzione: si consiglia di deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 30 secondi

FASE 2 : Centrifugare a 14.000 rpm per 5 minuti.

FASE 3 : Trasferire 100 µl del sovrantante limpido in una provetta.

- Aggiungere a ciascuna provetta 100 µl di **Reagente B** – Sol. Stabilizzante

Al vortex per 10 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 2 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della soluzione nel cromatografo e attendere la stampa del cromatogramma.

ANTIEPILETTICI - Avvertenze

REAGENTE C1-C2-C3-C4-C5 : CALIBRATORE LIOFILI PLASMATICI - Lot 001

	LIVELLO 1	LIVELLO 2	LIVELLO 3	LIVELLO 4	LIVELLO 5
LEVETIRACETAM µg/ml	4,1	10,6	40,8	40,9	56,3
LAMOTRIGINA µg/ml	2,3	5,6	12,5	15,8	19,3
PRIMIDONE mg/l	3,6	5,6	15,8	18,7	25,5
OXCARBAZEPINA mg/l	1,2	5,8	27,0	39,1	55,2
CARBAMAZEPINA EPOSSIDO mg/l	1,3	6,3	26,0	35,7	52,9
MONOIDROSSICARBAMAZEPINA µg/ml	0,8	5,3	28,1	39,9	54,2
CARBAMAZEPINA mg/l	0,9	3,1	6,9	9,5	21,5
FELBAMATO mg/l	9,5	34,9	79,4	95,1	119,3
RUFINAMIDE mg/l	1,0	4,0	20,3	27,2	61,1
DESMETILSUCCIMIDE mg/l	/	/	/	/	/
FENITOINA mg/l	4,7	7,9	15,7	21,0	30,8
METOSUCCIMIDE mg/l	5,4	9,6	33,1	42,4	64,7
TOPIRAMATO mg/l	1,0	5,2	28,3	39,5	58,2
FENOBARBITAL mg/l	7,1	10,6	32,4	40,0	59,5
ACIDO VALPROICO mg/l	13,5	35,1	66,9	99,2	160,8
ETOSUCCIMIDE µg/ml	21,1	40,2	75,1	101,7	147,4
LACOSAMIDE mg/l	0,2	1,3	4,9	5,3	11,0
ZONISAMIDE µg/ml	4,9	8,0	27,0	35,3	49,5
Modalità d'uso e Ricostituzione: i Calibratori devono essere usati per calibrare il sistema HPLC. Aggiungere esattamente 1 ml di H ₂ O di grado HPLC e, SENZA agitare, attendere 15 minuti fino a quando tutto il materiale non è dissolto.					
Conservazione e stabilità : i Calibratori liofili sono stabili 36 mesi dalla data di preparazione se conservati a 2–8 °C. Almeno 1 mese se conservati a 2–8 °C e 6 mesi a –20 °C una volta ricostituiti. Non usarli dopo la data di scadenza.					
Confezionamento : 5 x 1 ml					
Precauzioni : questo calibratore in matrice umana deve essere trattato con cura e considerato come potenzialmente infettivo.					

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova ACCUCORE C18 30 x 2,1 mm – 2,6 µm. Termostatare a 35 °C. Disconnettere il detector e far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v/v) al flusso di 400 ul / minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con una soluzione di H₂O : Fase Mobile (20 : 80 v/v) al flusso di 400 ul / minuto per 10 minuti.

NON è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase.

Se la T Amb del Laboratorio è > 25°C si consiglia di conservare a 2-8°C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

PULIZIA DELLA COLONNA

Lavaggio colonna a fine seduta non necessario. Se le sedute analitiche non si ripetono il giorno seguente è consigliato lo stoccaggio in una soluzione di H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v/v)

LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa, prima di ogni seduta analitica, con una soluzione di H₂O : Metanolo (50 : 50 v/v).

PARAMETRI COMPUTER GESTIONALE

SECONDO LE SPECIFICHE DEL SOFTWARE GESTIONALE

GRADIENTE			
Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0	80	20	400
2.5	80	20	400
3.2	20	80	400
5.0	80	20	400

ANALITA	PARENT ION
Levetiracetam	171.3
Lamotrigina	256.0
Primidone	219.1
Oxcarbazepina	253.0
Carbamazepina Epossido	253.0
Monoidrossicarbamazepina	255.0
Carbamazepina	237.0
Felbamato	261.1
Rufinamide	239.1
Desmetilsuccimide	190.2
Ritonavir	721.4
Fenitoina	253.3
Metosuccimide	204.0
Topiramato	362.4
Pravastatina	423.3
Fenobarbital	232.2
Acido Valproico	142.6
Etosuccimide	139.6
Lacosamide	251.5
Zonisamide	211.0

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC04916	Calibratore per Antiepilettici plasmatici	5 x 2 x 1 ml
LC04917	Controllo per Antiepilettici plasmatici – Livello 1	5 x 1 ml
LC04918	Controllo per Antiepilettici plasmatici - Livello 2	5 x 1 ml
LC04919	Controllo per Antiepilettici plasmatici - Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
ZTF17126032130	Colonna Analitica Accucore C 18 (30 x 2,1 mm –2,6 µm)	1 PZ
S29307U	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 µl + tappini	1 x 100 PZ



ANTIEPILETTICI PLASMATICI

(Cromatogrammi di Riferimento)

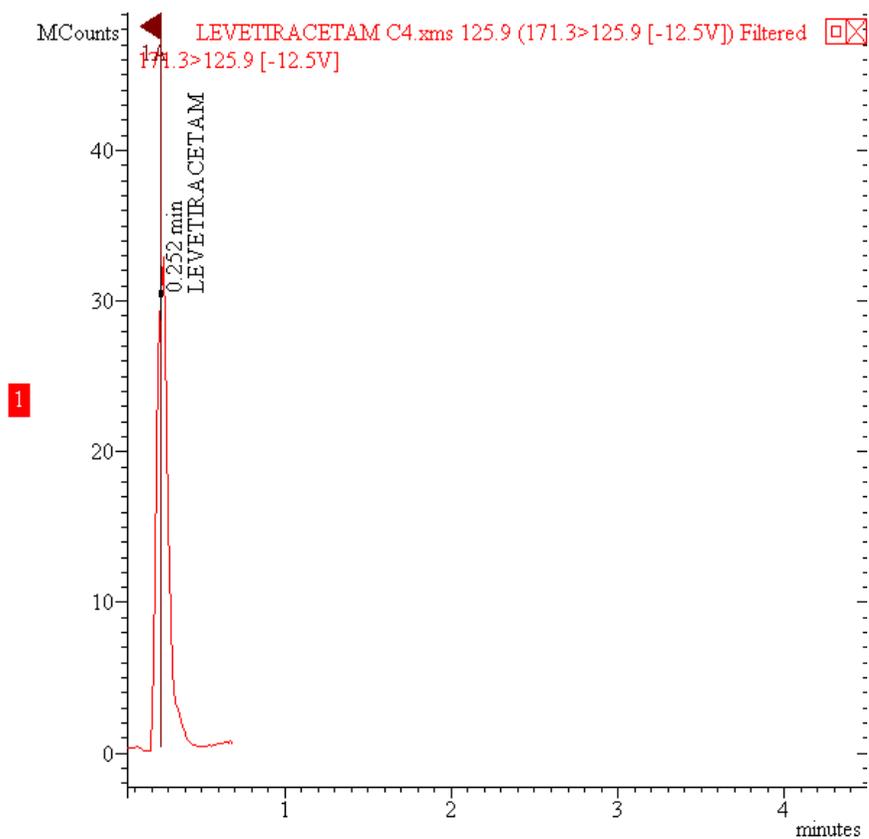


Fig. 1 :	Calibratore plasmatico
	R.T. 0.25 Levetiracetam

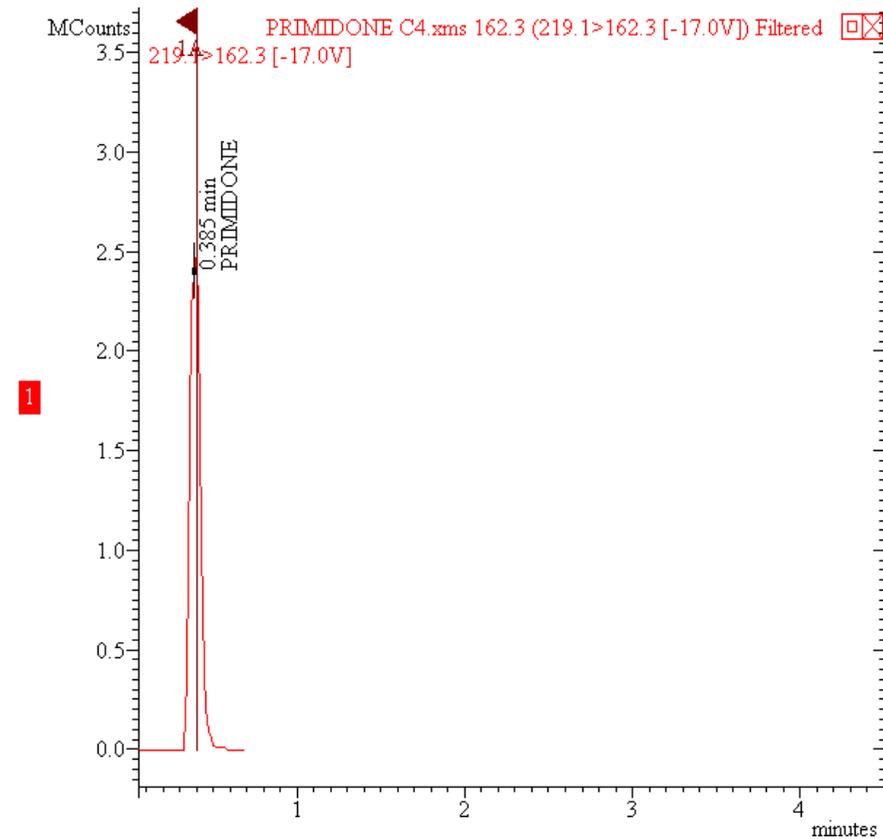


Fig. 2 :	Calibratore plasmatico
	R.T. 0.38 Primidone

ANTIEPILETTICI PLASMATICI (Cromatogrammi di Riferimento)

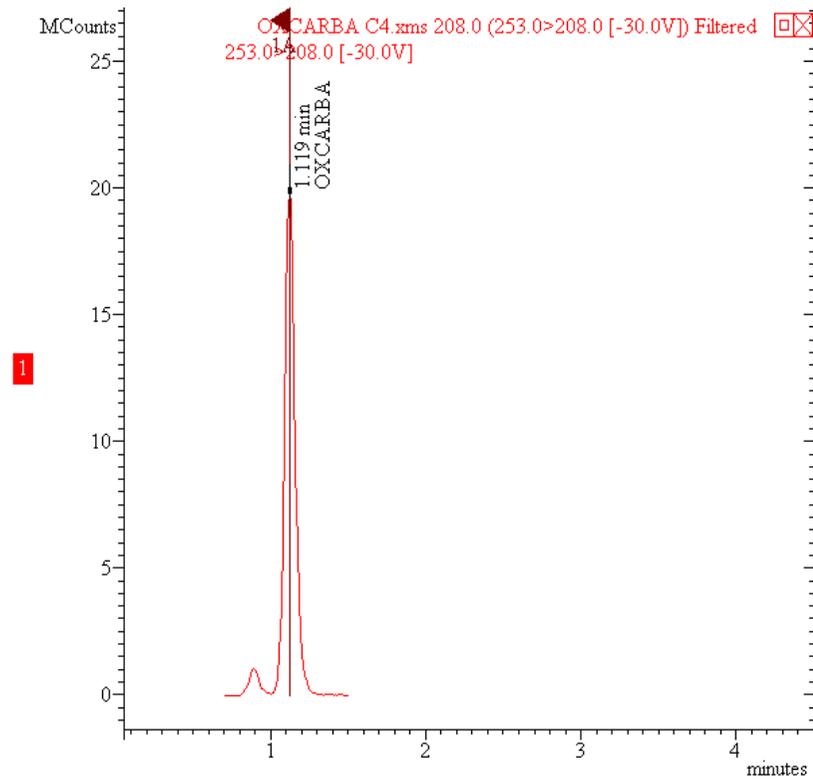


Fig. 3 :	Calibratore plasmatico
	R.T. 1.12 Oxcarbazepina

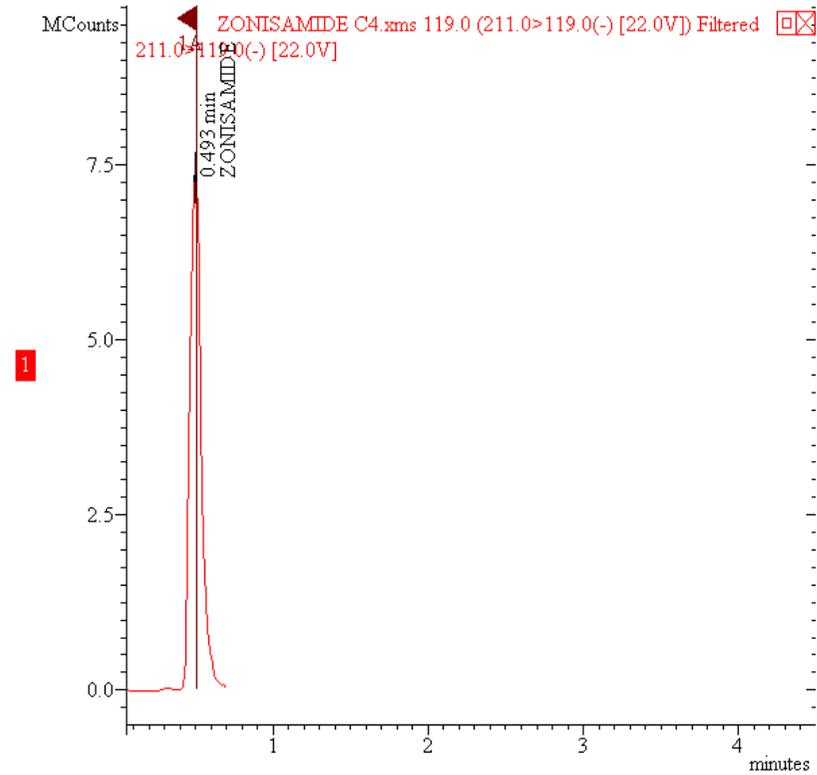


Fig. 4 :	Calibratore plasmatico
	R.T. 0.49 Zonisamide

ANTIEPILETTICI PLASMATICI

(Cromatogrammi di Riferimento)

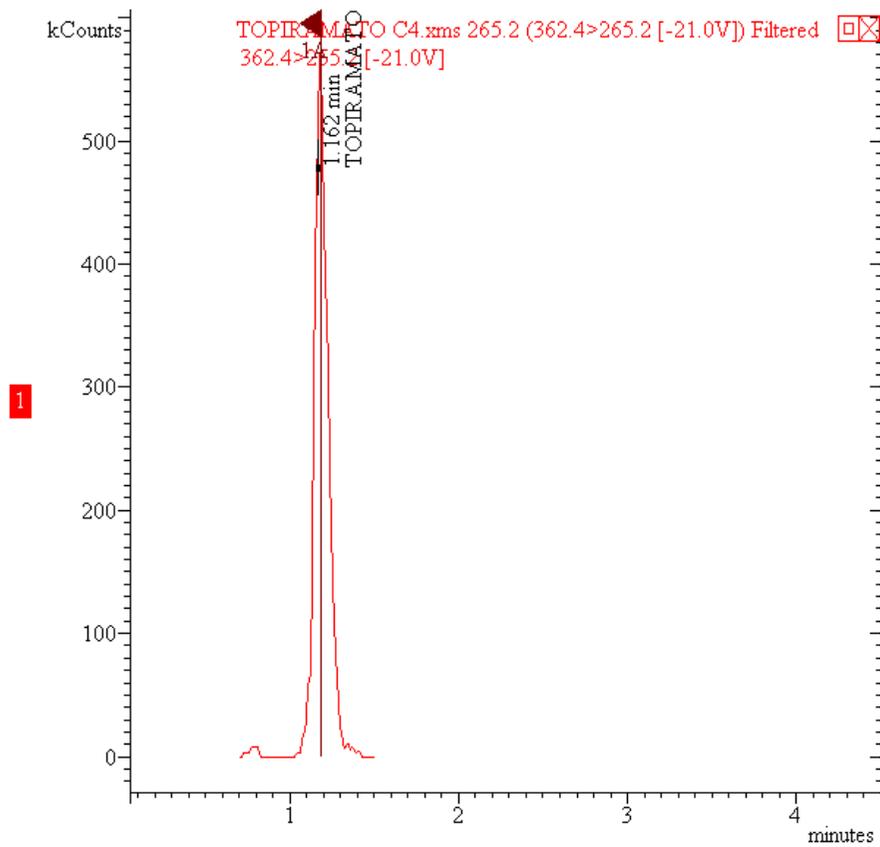


Fig. 5 :	Calibratore plasmatico
	R.T. 1.16 Topiramato

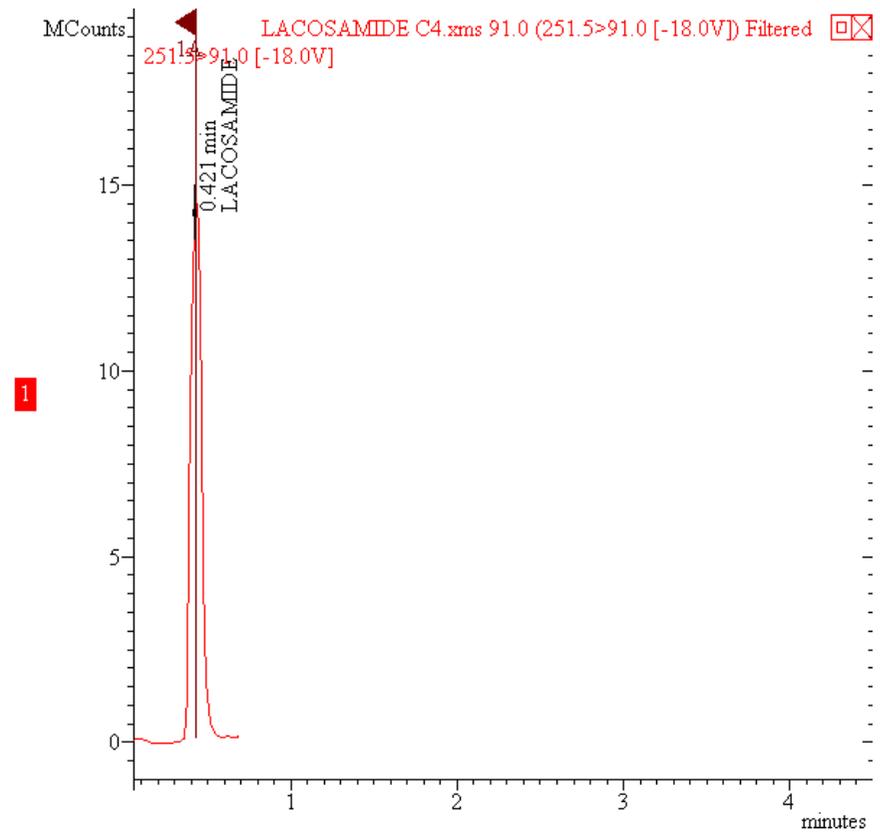


Fig. 6 :	Calibratore plasmatico
	R.T. 0.42 Lacosamide