

ANTIEPILETTICI PLASMATICI IN LC-MS/MS

REF LC05010

10,11-DIIDRO-10-IDROSSI-CARBAMAZEPINA, CARBAMAZEPINA, CARBAMAZEPINA EPOSSIDO, DESMETILSUCCIMIDE, ETOSUCCIMIDE, LACOSAMIDE, LAMOTRIGINA, LEVETIRACETAM, METOSUCCIMIDE, OXACARBAZEPINA, FELBAMATO, FENOBARBITAL, FENITOINA, PERAMPANEL, PRIMIDONE, RUFINAMIDE, TOPIRAMATO, ACIDO VALPROICO, ZONISAMIDE

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



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

REF

LC05010

IVD

Per uso diagnostico *in vitro*

CE

N° 004		10/2024
--------	--	---------

INDICE

DESTINAZIONE D'USO.....	4
CONTENUTO DEL KIT PER 100 TEST	4
ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE.....	5
STRUMENTAZIONE.....	5
MATRICE – PROCEDURA DI RACCOLTA E CONSERVAZIONE.....	5
VALORI DI RIFERIMENTO	6
PROCEDURA ANALITICA.....	7
GRADIENTE.....	8
PARAMETRI	8
FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DEGLI STANDARD INTERNI DEUTERATI.....	9
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE I.....	10
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II.....	12
CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE III	13
CROMATOGRAMMI DI RIFERIMENTO	14
AVVERTENZE GENERALI	17
ABBREVIAZIONI.....	18
BIBLIOGRAFIA	19
NORME DI RIFERIMENTO.....	20
SIMBOLI IVD.....	21

DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo Medico diagnostico *In vitro* per la rilevazione e l'analisi quantitativa di 10,11-Diidro-10-Idrossi-Carbamazepina, Carbamazepina, Carbamazepina Epossido, Desmetilsuccimide, Etosuccimide, Lacosamide, Lamotrigina, Levetiracetam, Metosuccimide, Oxacarbazepina, Felbamato, Fenobarbital, Fenitoina, Perampanel, Primidone, Rufinamide, Topiramato, Acido Valproico e Zonisamide plasmatici come monitoraggio per la terapia antiepilettica.

Metodo Manuale per uso professionale.

CONTENUTO DEL KIT PER 100 TEST

CONTENUTO	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO	AVVERTENZE
Reagente A	Soluzione Deproteinizzante + Standard Interni	1 x 50 ml	Stoccare a -25°C  -15°C
Reagente B	Soluzione Stabilizzante	1 x 50 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$  $+8^{\circ}\text{C}$
Reagente C	Soluzione Tampone	1 x 3 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$  $+8^{\circ}\text{C}$
Calibratore liofilo plasmatico multiparametrico		7 x 1 x 1 ml	(confezionato separatamente – Codice LC04916 -vedi scheda tecnica)
Reagente M1	Fase Mobile M1	1 x 500 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$  $+8^{\circ}\text{C}$
Reagente M2	Fase Mobile M2	1 x 500 ml	Stoccare a $+2^{\circ}\text{C}$  $+8^{\circ}\text{C}$

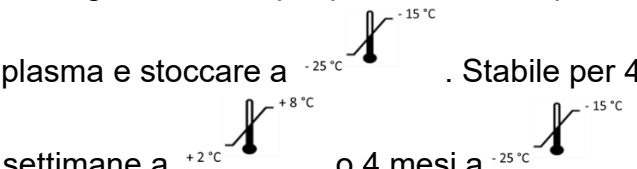
ACCESSORI E CONSUMABILI FORNIBILI A PARTE

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONAMENTO
LC04916	Calibratore per Antiepilettici plasmatici	7 x 2 x 1 ml
LC04919	Controllo per Antiepilettici plasmatici – Livelli 1, 2 e 3	3 x 5 x 1 ml
SK05010	Starter kit per Antiepilettici plasmatici	25 x 1 ml
LC05011	Fase Mobile M1	4 x 500 ml
LC05021	Fase Mobile M2	4 x 500 ml
LC05030	Soluzione mix Standard Interni Deuterati plasmatici	1 x 50 ml
Z699675902	Colonna Analitica Poroshell EC- C18 (50 x 2,1 mm - 1,9 µm)	1 Pz
S51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 15 µl a 1,5 ml	1 x 100 Pz
S51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 15 µl a 1,5 ml	1 x 100 Pz
L-30-210	Provetta conica con tappo tipo Eppendorf da 1,5 ml	1 x 1000 Pz

STRUMENTAZIONE

DESCRIZIONE	AVVERTENZE
Strumento LC-MS triplo quadrupolo con valvola Divert – Modalità di lavoro MRM – ESI Positivo/negativo	Necessario
Computer gestionale	Necessario
Autocampionatore	Necessario

MATRICE – PROCEDURA DI RACCOLTA E CONSERVAZIONE

MATRICE	PROCEDURA
Plasma	Prelevare 3 ml di sangue intero in una provetta senza gel o EDTA come anticoagulante. Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il plasma e stoccare a -25°C o $+8^{\circ}\text{C}$. Stabile per 4 settimane a $+2^{\circ}\text{C}$ o 4 mesi a -25°C. 

Antiepilettici	Range Terapeutico
10,11-Diidro-10-Idrossi-Carbamazepina	3 - 40 µg/ml
Carbamazepina	6 – 12 mg/l
Carbamazepina Epossido	2 - 4 mg/l
Desmetilsuccimide	10 - 40 mg/l
Etosuccimide	40 - 100 µg/ml
Lacosamide	1 - 10 mg/l
Lamotrigina	3 - 14 µg/ml
Levetiracetam	10 - 37 µg/ml
Metosuccimide	10 - 40 mg/l
Oxacarbazepina	0 - 4 mg/l
Perampanel	0,1 - 1 µg/ml
Felbamato	10 - 80 mg/l
Fenobarbital	10 - 40 mg/l
Fenitoina	10 - 20 mg/l
Primidone	5 - 12 mg/l
Rufinamide	1 - 50 mg/l
Topiramato	2 - 25 mg/l
Acido Valproico	40 - 100 mg/l
Zonisamide	10 - 38 µg/ml

PROCEDURA ANALITICA

FASE	DESCRIZIONE																				
1	Dispensare in provette di tipo Eppendorf: <table><tr><td></td><td>Calibratore</td><td>Campione</td><td>Controllo</td></tr><tr><td>Calibratore</td><td>50 µl</td><td></td><td></td></tr><tr><td>Campione</td><td></td><td>50 µl</td><td></td></tr><tr><td>Controllo</td><td></td><td></td><td>50 µl</td></tr><tr><td>Reagente C</td><td>25 µl</td><td>25 µl</td><td>25 µl</td></tr></table> <u>Attendere 3 minuti</u>		Calibratore	Campione	Controllo	Calibratore	50 µl			Campione		50 µl		Controllo			50 µl	Reagente C	25 µl	25 µl	25 µl
	Calibratore	Campione	Controllo																		
Calibratore	50 µl																				
Campione		50 µl																			
Controllo			50 µl																		
Reagente C	25 µl	25 µl	25 µl																		
2	Aggiungere 500 µl di Reagente A ad ogni provetta di tipo Eppendorf preparata nella FASE 1. <u>Attenzione: deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 20 secondi</u>																				
3	Incubare a +2 °C  per 15 minuti Centrifugare a 14.000 rpm per 15 minuti																				
4	Pipettare 50 µl del surnatante in una vial di vetro. Aggiungere 450 µl del Reagente B (o un appropriato volume adatto alla sensibilità dello strumento) <u>Vortex per 10 secondi</u>																				
INIEZIONE	Iniettare 1 – 10 µl della soluzione nel Sistema LC.																				

GRADIENTE

SISTEMA UHPLC [Colonna Analitica Poroshell EC-C18 (50 x 2,1 mm – 1,9 µm)]

Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0	100	0	500
0.53	100	0	500
0.54	87	13	500
1.80	87	13	500
1.81	79	21	500
2.80	79	21	500
3.30	50	50	500
3.80	50	50	500
3.90	20	80	500
4.20	20	80	500
4.30	5	95	500
4.80	5	95	500
4.90	100	0	500
6.00	100	0	500

PARAMETRI

Parametri settati su un triplo quadrupolo SCIEX 4500

	ANTIEPILETTICI ESI POSITIVI	ANTIEPILETTICI ESI NEGATIVI
CURTAIN GAS (CUR)	40	40
COLLISION GAS (CAD)	8	8
ION SPRAY VOLTAGE (IS)	5500 V	-4500 V
TEMPERATURE (TEM)	600°C	600°C
ION SOURCE GAS 1 (GS1)	40	30
ION SOURCE GAS 2 (GS2)	30	30

FRAMMENTAZIONE DEGLI ANALITI E DEGLI STANDARD INTERNI DEUTERATI

ANALITI	RT (min)	FRAMMENTAZIONE		S.I. DEUTERATI USATI PER LA CALIBRAZIONE	RT (min)	FRAMMENTAZIONE	
		PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)			PARENT ION (Q1)	FRAGMENT ION (Q3)
10,11-Diidro-10- Idrossicarbamazepina (+)	2.90	255.2	237.2 – 194.1	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Carbamazepina (+)	3.70	237.2	194.2	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Carbamazepina Epossido (+)	3.45	253.0	210.0 – 180.0	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Desmetilsuccimide (+)	3.14	188.0	143.0	Desmetilsuccimide- D5	3.14	193.0	148.0
Etosuccimide (-)	2.02	140.1	140.1	Etosuccimide-D3	2.02	143.1	143.1
Lacosamide (+)	2.55	251.2	91.2 – 108.2	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Lamotriginae (+)	2.66	256.1	211.1 – 159.1	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Levetiracetam (+)	1.70	171.1	126.1	Levetiracetam-D6	1.70	177.1	132.1
Metosuccimide (+)	3.69	204.1	126.2 – 79.2	Desmetilsuccimide- D5	3.14	193.0	148.0
Oxcarbazepine (+)	3.55	253.2	236.2 – 180.2	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Perampanel (+)	4.71	350.1	219.0	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Phelbamate (+)	2.63	239.3	178.2	Felbamato-D4	2.63	243.2	182.1
Phenobarbital (-)	3.03	231.0	188.1	Zonisamide-D4	2.48	215.0	123.0
Phenytoin (+)	3.70	253.1	104.3 – 182.3	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Primidone (+)	2.44	219.2	162.2 – 91.2	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Rufinamide (+)	2.69	239.3	127.2	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Topiramate (+)	3.52	357.1	264.1	Lacosamide-D3	2.55	254.0	108.0
Valproic Acid (-)	3.86	143.0	143.0	Zonisamide-D4	2.48	215.0	123.0
Zonisamide (-)	2.48	211.0	119.0 – 147.0	Zonisamide-D4	2.48	215.0	123.0

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
C LLOQ	Concentrazione al limite minimo di quantificazione
C1	Concentrazione bassa
C2	Concentrazione media
C3	Concentrazione alta
Max C	La più alta concentrazione

ANALITI	CONCENTRAZIONI USATE PER CALCOLARE LA RIPRODUCIBILITÀ E L'ACCURATEZZA (ng/ml)				
	C LLOQ	C1	C2	C3	MAX C
10,11-Diidro-10-Idrossicarbamazepina	1,8	7,7	19	31,6	70,4
Carbamazepina	0,6	2,1	5,0	8,0	18,6
Carbamazepina Epossido	0,3	1,2	3,2	5,0	12,4
Desmetilsuccimide	1,8	5,9	17,4	27,7	63,6
Etosuccimide	3,8	15,8	36,9	59,5	131,7
Lacosamide	0,5	2,0	5,0	7,4	18,3
Lamotrigina	0,8	3,1	7,6	13,6	29,8
Levetiracetam	1,7	7,5	19,3	29,3	72,6
Metosuccimide	1,7	6,0	16,2	25,2	61,1
Oxacarbazepina	0,2	1,1	2,8	4,5	11,3
Perampanel	0,05	0,2	0,5	0,9	2,0
Felbamato	3,2	12,6	30,7	57,9	120,1
Fenobarbital	2,2	7,7	20,5	31,8	68,7
Fenitoina	0,7	4,6	12,0	19,0	42,2
Primidone	0,9	3,7	8,7	14,4	31,1
Rufinamide	1,4	4,6	10,6	15,0	36,1
Topiramato	0,8	4,1	8,9	15,8	36,2
Acido Valproico	3,3	16,8	36,6	61,7	139,8
Zonisamide	1,5	5,9	13,9	23,5	56,5

ANALITI	ACCURATEZZA INTRA SERIE (ERRORE RELATIVO %)		ACCURATEZZA INTER SERIE (ERRORE RELATIVO %)	
	C1 (%)	C3 (%)	C1 (%)	C3 (%)
10,11-Diidro-10-Idrossicarbamazepina	1,37	1,84	7,66	2,58
Carbamazepina	9,68	2,59	12,12	6,08
Carbamazepina Epossido	4,12	1,64	9,83	2,05
Desmetilsuccimide	2,90	1,64	9,13	3,20
Etosuccimide	0,42	3,18	3,89	3,27
Lacosamide	3,50	5,51	5,51	5,57
Lamotrigina	2,35	2,15	3,53	3,02
Levetiracetam	2,83	5,23	6,82	6,43
Metosuccimide	5,75	2,95	10,51	7,51
Oxacarbazepina	1,37	4,56	3,91	4,91
Perampanel	2,36	1,41	3,63	4,68
Felbamato	4,82	3,97	5,65	4,97
Fenobarbital	7,24	2,57	10,35	2,77
Fenitoina	1,88	3,70	4,98	4,36
Primidone	2,85	2,32	4,08	2,82
Rufinamide	7,19	2,72	7,50	4,03
Topiramato	1,75	3,13	5,39	6,23
Acido Valproico	3,42	2,37	3,77	2,44
Zonisamide	2,49	1,79	3,90	4,13

CARATTERISTICHE TECNICHE - PARTE II

ANALITI	RIPRODUCIBILITÀ INTRA SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)			RIPRODUCIBILITÀ INTER SERIE (COEFFICIENTE DI VARIAZIONE %)		
	C LLOQ (%)	C2 (%)	Max C (%)	C LLOQ (%)	C2 (%)	Max C (%)
10,11-Diidro-10- Idrossicarbamazepina	6,21	2,29	3,59	8,19	4,12	3,79
Carbamazepina	9,92	4,96	5,00	11,38	5,72	7,76
Carbamazepina Epossido	3,77	2,74	1,54	6,47	6,01	2,93
Desmetilsuccimide	4,19	4,77	2,62	8,46	5,52	3,86
Etosuccimide	5,78	4,87	3,63	6,40	7,00	6,73
Lacosamide	5,43	3,94	4,94	9,58	4,79	6,95
Lamotrigina	3,02	3,02	3,48	6,99	5,18	4,67
Levetiracetam	1,04	3,56	3,70	5,26	5,69	4,59
Metosuccimide	6,56	6,67	3,41	13,42	8,76	8,10
Oxacarbazepina	5,20	4,88	4,29	5,24	6,53	5,15
Perampanel	4,28	3,20	5,14	4,76	6,07	6,16
Felbamato	4,81	6,07	2,61	7,01	8,77	4,44
Fenobarbital	6,81	4,36	2,07	7,29	4,90	3,58
Fenitoina	8,05	3,30	4,46	11,85	8,79	8,06
Primidone	4,67	3,60	1,90	8,50	8,88	4,50
Rufinamide	5,29	3,71	1,50	6,34	11,37	3,64
Topiramato	5,63	4,76	3,08	9,88	8,45	5,26
Acido Valproico	4,35	2,80	1,96	6,57	9,39	11,98
Zonisamide	5,73	1,66	3,28	5,80	7,85	3,77

ANALITI	LLOD (ng/ml)	LINEARITÀ (ng/ml)	COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE R2 + STD DEV
10,11-Diidro-10- Idrossicarbamazepina	0,6	1,8 - 100	0,9972 ± 0,0031
Carbamazepina	0,2	0,6 - 30	0,9941 ± 0,0044
Carbamazepina Epossido	0,1	0,3 - 100	0,9974 ± 0,0023
Desmetilsuccimide	0,6	1,8 - 100	0,9977 ± 0,0025
Etosuccimide	1,3	3,8 - 150	0,9982 ± 0,0004
Lacosamide	0,2	0,5 - 30	0,9970 ± 0,0025
Lamotrigina	0,3	0,8 - 30	0,9977 ± 0,0010
Levetiracetam	0,5	1,7 - 100	0,9984 ± 0,0003
Metosuccimide	0,5	1,7 - 100	0,9944 ± 0,0036
Oxacarbazepina	0,6	0,2 - 100	0,9984 ± 0,0010
Perampanel	0,02	0,05 - 5	0,9986 ± 0,0002
Felbamato	1,1	3,2 - 150	0,9978 ± 0,0007
Fenobarbital	0,7	2,2 - 100	0,9973 ± 0,0017
Fenitoina	0,2	0,7 - 50	0,9971 ± 0,0010
Primidone	0,3	0,9 - 30	0,9976 ± 0,0019
Rufinamide	0,5	1,4 - 100	0,9979 ± 0,0012
Topiramato	0,3	0,8 - 100	0,9975 ± 0,0014
Acido Valproico	1,1	3,3 - 200	0,9968 ± 0,0022
Zonisamide	0,5	1,5 - 100	0,9982 ± 0,0003

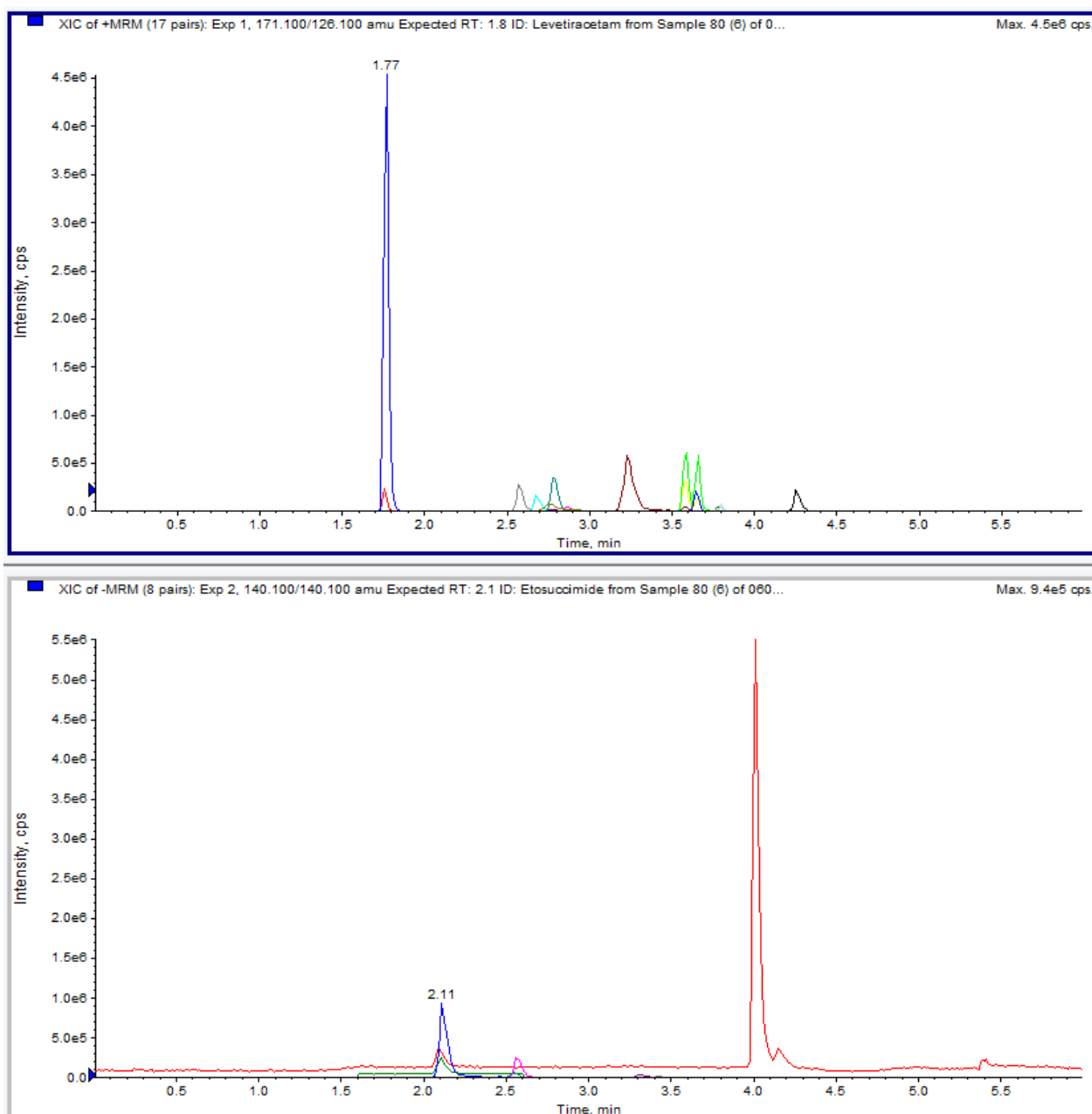


Fig. 1 Calibratore livello 6 (in alto le transizioni positive, in basso le transizioni negative)

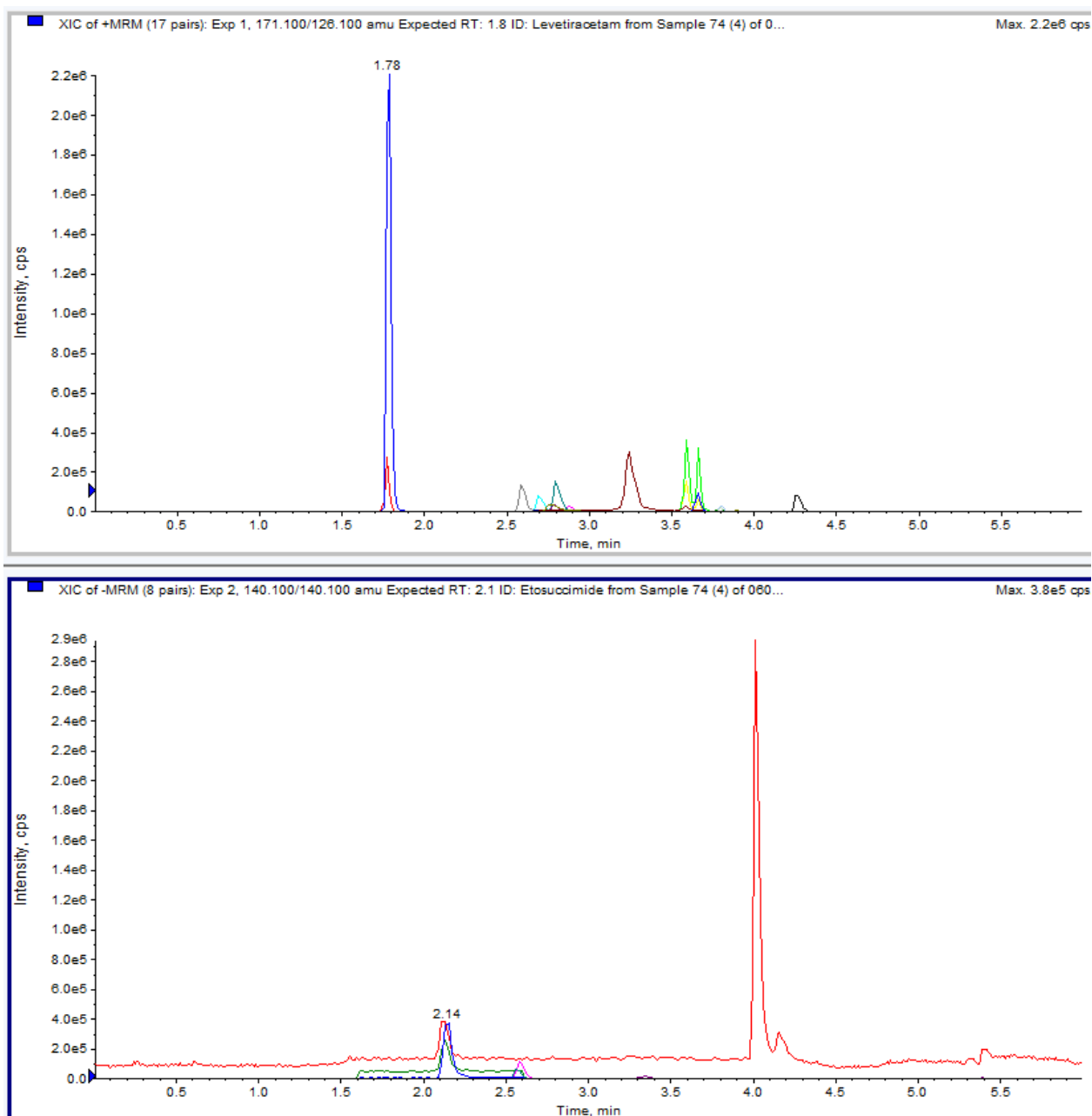


Fig 2 Controllo livello 2 (in alto le transizioni positive, in basso le transizioni negative)

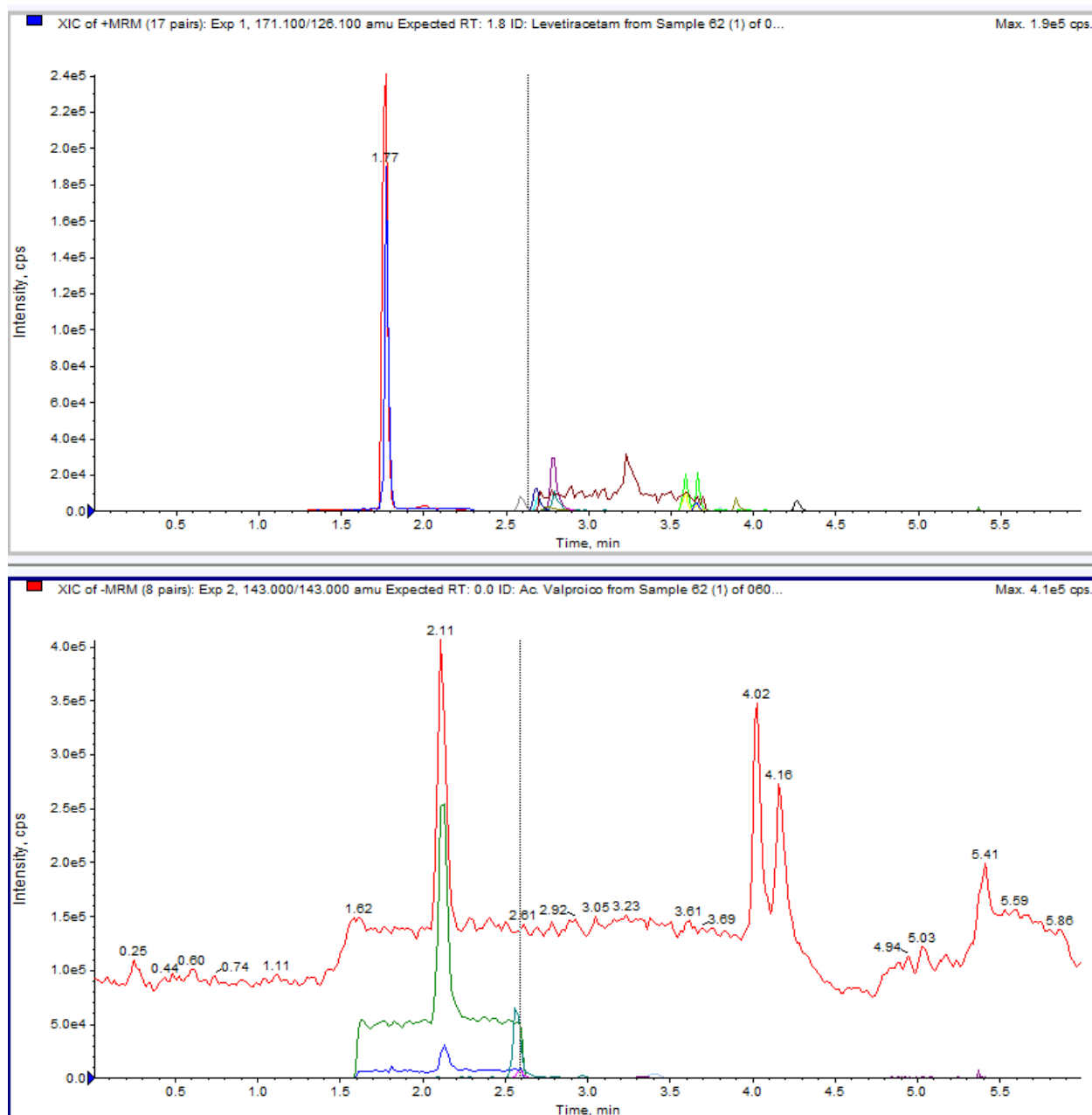


Fig. 3 Campione reale (Levetiracetam 2.1 ug/mL), (in alto le transizioni positive, in basso le transizioni negative)

1. STOCCAGGIO E DURATA DI CONSERVAZIONE

Tutti i componenti sono pronti all'uso. Sono stabili per 3 anni a  +2 °C, tranne il Reagente A (Soluzione Deproteinizzante + Standard Interni) che deve essere staccato a  -25 °C. Dopo l'apertura la durata dei nostri Standard Interni è di 6 mesi se conservati a  -25 °C.

2. TRATTAMENTO DELLA NUOVA COLONNA

Installare la nuova colonna analitica Poroshell EC-C18 (50 x 2,1 mm – 1,9 µm) termostata a 50°C. Scollegare il rilevatore e fluxare 30 ml di una soluzione di Fase Mobile M1:Fase Mobile M2 (20 : 80 v/v) e impostare il flusso a 500 µl/minuto. Non riciclare le soluzioni di lavaggio.

3. CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Condizionare la nuova colonna analitica Poroshell EC-C18 (50 x 2,1 mm – 1,9 µm) con le Fasi Mobili M1:M2 (90:10 v/v); impostare il flusso a 500 µl/minuto e scaricare i primi 10 ml. Non è possibile effettuare analisi a ricircolo di fase. Se la Temperatura dell'ambiente è > 20°C,

conservare la Fase Mobile a  +2 °C tra una sessione analitica e l'altra.

4. PULIZIA DELLA COLONNA

Scollegare il rilevatore. Fluxare una soluzione composta da Fase Mobile M1:Fase Mobile M2 (30: 70 v/v), impostare il flusso a 500 µl/minuto per 10 min e scaricare. La colonna deve essere stoccata in una soluzione di Fasi Mobili M1:M2 (30:70 v/v).

5. LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa con Metanolo al 75% prima dell'utilizzo.

ABBREVIAZIONI	SIGNIFICATO
Es. 5 x 1 x 1 ml	N° di livelli x N° di vial x volume
Es. confezionamento dello starter kit: 27 x 1 ml	N° di vial x volume Nota: ogni vial contiene una molecola (analita o standard interno deuterato)
SI	Standard Interno
pz	Pezzo/Pezzi
RT	Tempo di Ritenzione
STD DEV	Deviazione Standard

1. Faten Farouk *et al.* Simultaneous UPLC-MS/MS Determination of Antiepileptic Agents for Dose Adjustment Biomedical Chromatography 31(7) 2017
2. Tiedong Guo *et al.* Determination of levetiracetam in human plasma/serum/saliva by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry Clinica Chimica Acta 375 (2007) 115–118
3. Kwon-Bok Kima *et al.* Simple and accurate quantitative analysis of ten antiepileptic drugs in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 56 (2011) 771– 777
4. Lei Yin *et al.* Simultaneous determination of ten antiepileptic drugs in human plasma by liquid chromatography and tandem mass spectrometry with positive/negative ion-switching electrospray ionization and its application in therapeutic drug monitoring J. Sep. Sci. 2016, 39, 964–972

NORME DI RIFERIMENTO

Sistema di **Garanzia della Qualità** conforme alle normative:

UNI CEI EN ISO 13485:2016,

UNI 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**:

UNI CEI EN ISO 14971:2012

UNI CEI EN ISO 15223-1:2017

UNI EN ISO 18113-2:2012

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

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