

**ANTIDEPRESSIVI TRICICLICI SIERICI e/o PLASMATICI in UV – Codice Z56010**  
*Nordoxepina, Desipramina, Imipramina (TAD1), Doxepina, Amitriptilina e Nortriptilina (TAD 2)*

**INTRODUZIONE**

Gli Antidepressivi Triciclici (TCA) hanno soppiantato quasi del tutto gli Antidepressivi inibitori delle monoammino ossidasi (IMAO). L'efficacia di questi farmaci è stata ampiamente dimostrata da una serie di studi clinici effettuati negli ultimi 25 anni. Alcuni TCA come l'Amitriptilina e la Doxepina possiedono una maggiore attività sedativa rispetto ad altri TCA, infatti vengono impiegati negli episodi depressivi con una forte componente ansiosa e/o insonnia. I TCA vengono usati nella terapia della depressione, a fronte di questi sintomi: disinteresse, stanchezza, sensi di colpa, insonnia, perdita dell'appetito, idee di suicidio.

Il sovradosaggio di TCA può dare un'intossicazione acuta, che va valutata sulla base della quantità di farmaco assunta e dei livelli plasmatici di principio attivo. L'ingestione di alte dosi di TCA provoca una sintomatologia da intossicazione acuta e può essere mortale. L'intossicazione acuta da TCA interessa in particolare il cuore ed il sistema nervoso centrale, i sintomi tipici sono: dilatazione pupillare, stato confusionale, disartria e convulsioni, paralisi respiratoria ed intestinale, gravi aritmie cardiache, coma.

Le interazioni dei TCA con altri psicofarmaci sono molto pericolose. In particolare, l'interazione fra TCA ed antidepressivi IMAO deve essere evitata per l'insorgere di convulsioni, ipertensione arteriosa, collassi cardio-circolatori, morte improvvisa. Anche l'associazione di TCA con antiparkinsoniani, antistaminici, alcuni antispastici, deve essere evitata. I TCA aumentano inoltre l'effetto sedativo di molte sostanze che deprimono il sistema nervoso centrale: alcol, barbiturici, benzodiazepine e altre ancora. I TCA possono anche potenziare gli effetti delle amfetamine e di farmaci amfetamino-simili. Sono stati riportati casi di crisi ipertensiva ed emorragie cerebrali talvolta fatali nei casi di tali interazioni farmacologiche.

 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



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.

|        |                                                        |         |
|--------|--------------------------------------------------------|---------|
| N° 004 | Antidepressivi triciclici sierici e/o plasmatici in UV | 10/2024 |
|--------|--------------------------------------------------------|---------|

## **CARATTERISTICHE DEL METODO**

### **Principio del Metodo:**

Gli Antidepressivi triciclici vengono isolati purificando il siero/plasma con una colonna clean-up. Dopo l'aggiunta di uno stabilizzante l'estratto viene direttamente iniettato in HPLC.

**Recupero del Metodo:** 97 %

**Sensibilità del Metodo:** 5 µg/l

**Range dinamico del metodo:** 5 - 2000 µg/l

|                                            |                              |                |
|--------------------------------------------|------------------------------|----------------|
| <b><u>Range terapeutico nel siero:</u></b> | <b><i>Nordoxepina:</i></b>   | 110 – 250 µg/l |
|                                            | <b><i>Desipramina:</i></b>   | 75 – 160 µg/l  |
|                                            | <b><i>Imipramina:</i></b>    | 150 – 250 µg/l |
|                                            | <b><i>Doxepina:</i></b>      | 110 – 250 µg/l |
|                                            | <b><i>Amitriptilina:</i></b> | 100 – 250 µg/l |
|                                            | <b><i>Nortriptilina:</i></b> | 50 – 150 µg/l  |

**Contenuto della confezione:** Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2–8 °C. I Calibratori sono stabili 24 mesi a 2-8 °C.

**Reagente A** – Soluzione Diluente, **1 x 40 ml**

**Reagente B** – Soluzione di Condizionamento 1, **1 x 300 ml**

**Reagente C** – Soluzione di Condizionamento 2, **1 x 300 ml**

**Reagente D** – Soluzione di Lavaggio 1, **1 x 300 ml**

**Reagente E** – Soluzione di Lavaggio 2, **1 x 80 ml**

**Reagente F** – Soluzione Eluente, **1 x 50 ml**

**Reagente G** – Soluzione Standard Interno Clomipramina, **1 x 2 ml** **Vedi Avvertenze**

**Reagente H** – Soluzione Test TAD 1, **1 x 2 ml** **Vedi Avvertenze**

**Reagente I** – Soluzione Test TAD 2, **1 x 2 ml** **Vedi Avvertenze**

**Calibratore plasmatico liofilo, 1 x 5 ml** **Codice Z56016**  
**Confezionato a parte – vedi scheda tecnica**

**Colonne clean-up, 100 Pz**

**Reagente M** – Fase Mobile, **5 x 500 ml**

**Dotazione strumentale minima richiesta:** Strumento HPLC isocratico con loop da 100 µl  
Detector spettrofotometrico UV/VIS  $\lambda=216$  nm  
Registratore di cromatogrammi

**Dotazione opzionale:** Autocampionatore  
Computer gestionale

**Modalità per il prelievo ematico:** Prelevare 5 ml di sangue venoso in una provetta senza gel o con EDTA come anticoagulante. Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il siero e stoccarlo a – 20 °C. Stabile 4 settimane.

## **PROCEDURA PREANALITICA**

Preparazione della Soluzione Test.

In una provetta pipettare:

- 900 µl di Acqua grado HPLC
- 100 µl di **Reagente H** – Sol. Test TAD1 o **Reagente I** – Sol. Test TAD2
- 20 µl di **Reagente G** – Sol. Standard Interno

### **INIEZIONE:**

- Iniettare 100 µl della soluzione nel cromatografo HPLC ed attendere la stampa del cromatogramma.

Verificare che la Sol. Test abbia tempi di ritenzione simili a quelli riportati in fig. 1. Se il Test ha dato esito positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico. **Importante:** Questa Soluzione così ottenuta non deve essere usata come calibratore

## **PROCEDURA ANALITICA**

### **FASE 1:** Preparazione dei Campioni, del Calibratore e dei Controlli

Dispensare in provetta:

|                                           | <b>Bianco</b> | <b>Campione</b> | <b>Calibratore</b> |
|-------------------------------------------|---------------|-----------------|--------------------|
| <b>Acqua di grado HPLC</b>                | 1000 µl       |                 |                    |
| <b>Campione</b>                           |               | 1000 µl         |                    |
| <b>Calibratore</b>                        |               |                 | 1000 µl            |
| <b>Reagente A</b> – Sol. Diluente         | 400 µl        | 400 µl          | 400 µl             |
| <b>Reagente G</b> – Sol. Standard Interno | 20 µl         | 20 µl           | 20 µl              |

**Agitare al vortex per 10 secondi**

### **FASE 2:** Condizionamento delle colonne Clean-up.

*Preparare un numero di colonne Clean-up pari al numero dei campioni da analizzare più lo Standard di Calibrazione e gli eventuali Controlli.*

- Versare in colonna 3 ml di **Reagente B** – Sol. di Condizionamento 1 *Non portare a secco!*
- Versare in colonna 3 ml di **Reagente C** – Sol. di Condizionamento 2 *Non portare a secco!*

### **FASE 3:** Caricamento del Campione

Versare 1,420 ml di campione precedentemente preparato nelle colonne Clean-up e lasciar percolare tutto il liquido di ogni colonna Clean-up, anche con l'ausilio di un vuoto moderato, alla velocità di circa 1 ml/minuto (goccia a goccia).

### **FASE 4:** Lavaggio

- Lavare con 3 ml di **Reagente D** – Sol. di Lavaggio 1 *Portare a secco anche con l'ausilio di un vuoto moderato. Scartare l'eluato*
- Lavare con 0,8 ml di **Reagente E** – Sol. di Lavaggio 2 *Portare a secco anche con l'ausilio di un vuoto moderato. Scartare l'eluato*

### **FASE 5:** Eluizione

- Eluire con 0,5 ml di **Reagente F – Sol. Eluente**

*Portare a secco anche con l'ausilio di un vuoto moderato*

- Diluire l'eluato con 1 ml di H<sub>2</sub>O

**Al vortex per 10 secondi**

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

**INIEZIONE:**

- Iniettare 100 µl della soluzione nel Cromatografo e attendere la stampa del cromatogramma.

## **ANTIDEPRESSIVI TRICICLICI - Avvertenze**

### **REAGENTE G – SOLUZIONE STANDARD INTERNO CLOMIPRAMINA**

L'assunzione di Clomipramina, contemporanea agli analiti, determina una errata determinazione quantitativa.

### **REAGENTE H - SOLUZIONE TEST TAD 1**

| <b>ANTIDEPRESSIVI TRICICLICI 1:</b> |            |
|-------------------------------------|------------|
| Nordoxepina                         | 33,33 mg/l |
| Desipramina                         | 33,33 mg/l |
| Imipramina                          | 33,33 mg/l |

### **REAGENTE I - SOLUZIONE TEST TAD 2**

| <b>ANTIDEPRESSIVI TRICICLICI 2:</b> |            |
|-------------------------------------|------------|
| Doxepina                            | 33,33 mg/l |
| Amitriptilina                       | 33,33 mg/l |
| Nortriptilina                       | 33,33 mg/l |

### **PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO**

|                       |            |
|-----------------------|------------|
| $\lambda$             | 216 nm     |
| GAIN                  | 0,001 AUFS |
| TEMPO DI INTEGRAZIONE | 10 secondi |

### **CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA**

Installare la colonna analitica nuova Hypersil Gold CN (150 mm x 4,6 mm – 5  $\mu$ m). Disconnettere il detector e far passare di una soluzione di H<sub>2</sub>O:Acetonitrile (20 : 80 v/v) al flusso di 1,2 ml/minuto per 30 minuti. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Filtrare la fase mobile con pompa da vuoto e filtro idoneo da 0,22  $\mu$  o 0,45  $\mu$ . Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1,2 ml/minuto per 20 minuti. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione.

**NON è consigliato effettuare analisi a ricircolo di fase.**

Se la T Amb del Laboratorio è > 20 °C si consiglia di conservare a 2-8 °C la Fase Mobile fra una seduta analitica e l'altra.

### **PULIZIA DELLA COLONNA**

Disconnettere il detector. Flussare una soluzione di H<sub>2</sub>O:Acetonitrile (20 : 80 v/v) per 30 minuti a 1,2 ml/min scaricandola. Stoccare la colonna in una soluzione di H<sub>2</sub>O:Acetonitrile (20 : 80 v/v). Lavare l'ago di iniezione con una soluzione di H<sub>2</sub>O:Acetonitrile o Etanolo (80 : 20 v/v).

### **PARAMETRI HPLC**

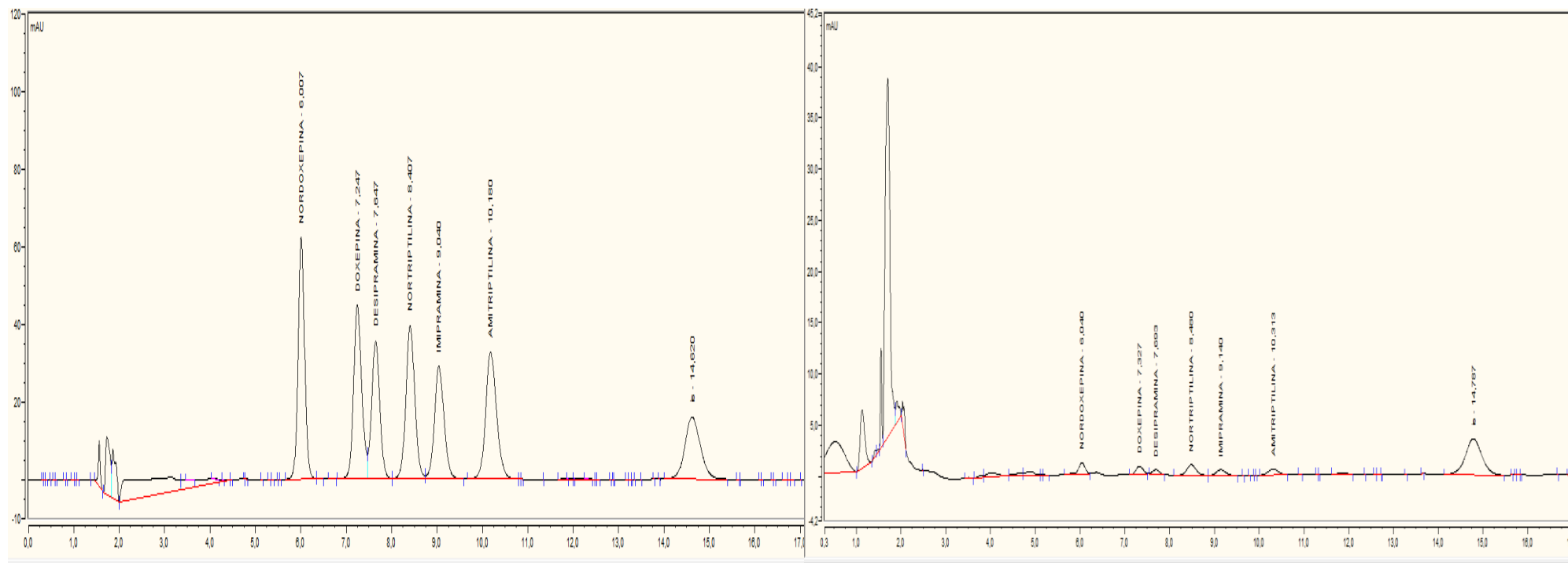
|                              |               |
|------------------------------|---------------|
| LOOP                         | 100 $\mu$ l   |
| Flusso di lavoro consigliato | 1,2 ml/minuto |
| Pressione corrispondente     | Circa 80 bar  |

**ACCESSORI E CONSUMABILI**

| <b>CODICE</b>         | <b>DESCRIZIONE</b>                                                                                                                                | <b>CONFEZIONE</b> |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| <b>Z56016</b>         | Calibratore per Antidepressivi Triciclici plasmatici (Imipramina, Desipramina, Amitriptilina, Nortriptilina, Doxepina, Nordoxepina)               | 4 x 5 ml          |
| <b>Z56019</b>         | Controllo per Antidepressivi Triciclici plasmatici (Imipramina, Desipramina, Amitriptilina, Nortriptilina, Doxepina, Nordoxepina) - Livelli 1 e 2 | 2 x 5 x 5 ml      |
| <b>ZTF25805154630</b> | Colonna Analitica Hypersil Gold CN (150 mm x 4,6 mm – 5 um)                                                                                       | 1 PZ              |
| <b>S29057U</b>        | Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite                                                                                                   | 1 x 100 PZ        |

# ANTIDEPRESSIVI TRICICLICI SIERICI e/o PLASMATICI

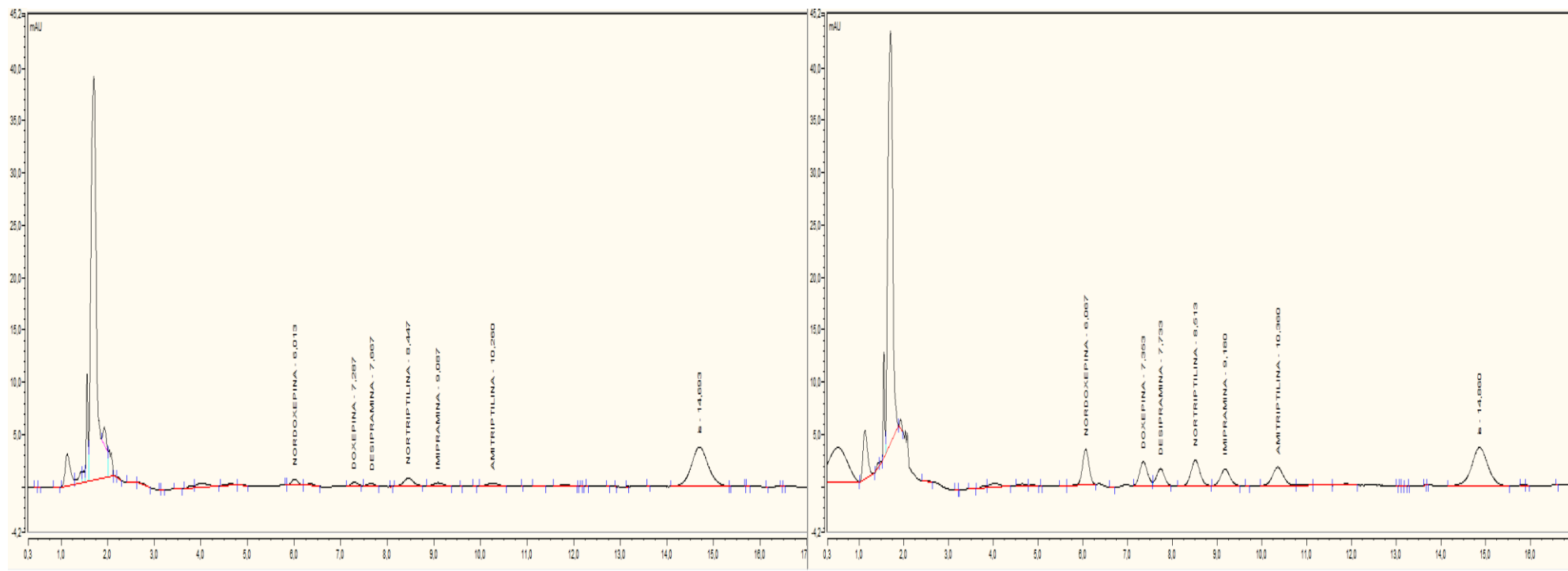
(Cromatogrammi di Riferimento)



| Fig. 1 | Soluzione Test             |
|--------|----------------------------|
|        | R.T. 6.0 Nordoxepina       |
|        | R.T. 7.2 Doxepina          |
|        | R.T. 7.6 Desipramina       |
|        | R.T. 8.4 Nortriptilina     |
|        | R.T. 9.0 Imipramina        |
|        | R.T. 10.1 Amitriptilina    |
|        | R.T. 14.6 Standard interno |

| Fig. 2 | Calibratore plasmatico              |
|--------|-------------------------------------|
|        | R.T. 6.0 Nordoxepina 136,9 ng/ml    |
|        | R.T. 7.3 Doxepina 141,4 ng/ml       |
|        | R.T. 7.6 Desipramina 94,9 ng/ml     |
|        | R.T. 8.4 Nortriptilina 126,0 ng/ml  |
|        | R.T. 9.1 Imipramina 159,8 ng/ml     |
|        | R.T. 10.3 Amitriptilina 154,8 ng/ml |
|        | R.T. 14.7 Standard interno          |

# **ANTIDEPRESSIVI TRICICLICI SIERICI e/o PLASMATICI** (Cromatogrammi di Riferimento)



| <b>Fig. 3</b> | <b>Controllo plasmatico Livello 1</b> |            |
|---------------|---------------------------------------|------------|
|               | R.T. 6.0 Nordoxepina                  | 61,1 ng/ml |
|               | R.T. 7.2 Doxepina                     | 62,4 ng/ml |
|               | R.T. 7.8 Desipramina                  | 55,4 ng/ml |
|               | R.T. 8.4 Nortriptilina                | 80,0 ng/ml |
|               | R.T. 9.0 Imipramina                   | 73,2 ng/ml |
|               | R.T. 10.2 Amitriptilina               | 69,2 ng/ml |
|               | R.T. 14.6 Standard interno            |            |

| <b>Fig. 4</b> | <b>Controllo plasmatico Livello 2</b> |             |
|---------------|---------------------------------------|-------------|
|               | R.T. 6.0 Nordoxepina                  | 323,7 ng/ml |
|               | R.T. 7.3 Doxepina                     | 306,9 ng/ml |
|               | R.T. 7.7 Desipramina                  | 310,5 ng/ml |
|               | R.T. 8.5 Nortriptilina                | 372,0 ng/ml |
|               | R.T. 9.1 Imipramina                   | 418,1 ng/ml |
|               | R.T. 10.3 Amitriptilina               | 485,1 ng/ml |
|               | R.T. 14.8 Standard interno            |             |