

IRINOTECANO/7-ETIL-10-IDROSSICAMPTOTECINA (SN38) PLASMATICI in LC/MS –
Codice LC94010

INTRODUZIONE

L'irinotecano è un farmaco chemioterapico antineoplastico della classe delle camptotecine (farmaci estratti dalla corteccia della *Camptotheca acuminata*).

L'irinotecano è un pro-farmaco. La sua attivazione avviene a livello epatico grazie alla trasformazione operata dall'enzima carbossiesterasi in SN-38. Irinotecano e SN-38 vengono poi eliminati principalmente attraverso la bile; per questo il dosaggio dovrebbe essere diminuito nei pazienti con insufficienza epatica. Il metabolita attivo SN-38 è in grado di inibire la topoisomerasi I, enzima responsabile della rottura-ricucitura del singolo filamento di DNA al fine di provocare un aumento del numero di legame. L'inibizione di tale enzima porta ad aberrazioni genomiche e conseguente innesco dell'apoptosi cellulare.

L'irinotecano in associazione con fluorouracile e leucovorin rappresenta il trattamento di prima linea per il cancro del colon-retto. Altre indicazioni sono il carcinoma polmonare non a piccole cellule.



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° 002	Irinotecano/SN38 plasmatici in LC/MS	10/2024
--------	--------------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

L'Irinotecano ed il suo metabolita attivo principale vengono analizzati trattando il plasma con un opportuno reagente di deproteinizzazione. La soluzione viene direttamente iniettata in LC/MS.

Recupero:

Irinotecano 97%
SN38 98%

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

Irinotecano 1 ng/ml
SN38 1 ng/ml

Linearità:

Irinotecano 3 – 10.000 ng/ml
SN38 3 – 1000 ng/ml

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ):

Irinotecano 3 ng/ml
SN38 3 ng/ml

Range terapeutico nel plasma :

Irinotecano valori normali 50 - 400 ng/ml
SN38 valori normali <17 ng/ml

1) Clin Pharmacol Ther. 2002 Sep; 72 (3):265-75
2) J Cancer Res Clin Oncol (2013) 139:1579-1589

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Irinotecano :

Ci	Cs
100 ng/ml	500 ng/ml
6,18%	0,73%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Irinotecano :

Ci	Cs
100 ng/ml	500 ng/ml
7,65%	2,44%

Riproducibilità intra serie (errore relativo %) Irinotecano :

Ci	Cm	Cs	
3 ng/ml	250 ng/ml	750 ng/ml	
3,23%	0,29%	0,94%	

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Irinotecano :

Ci	Cm	Cs	
3 ng/ml	20 ng/ml	40 ng/ml	
6,38%	2,58%	1,64%	

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9978 ± 0,0010 Irinotecano

Accuratezza intra serie (errore relativo %) SN38 :

C1	C2
10 ng/ml	50 ng/ml
3,94%	1,07%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) SN38 :

C1	C2
10 ng/ml	50 ng/ml
3,85%	2,40%

Riproducibilità intra serie (errore relativo %) SN38

:

Ci	Cm	Cs
3 ng/ml	25 ng/ml	75 ng/ml
1,16%	2,01%	1,09%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) SN38 :

Ci	Cm	Cs
3 ng/ml	20 ng/ml	40 ng/ml
2,07%	3,65%	3,44%

Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std

0,9984 ± 0,0008 SN38

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2–8 °C eccetto il Reagente A che va stoccato a -20 °C.

Reagente A – Soluzione Deproteinizzante + Standard interno, **1 x 40 ml** **Stoccare a -20 °C**

Calibratore plasmatico – Livello 1, 1 x 1 ml

Codice LC94016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Calibratore plasmatico – Livello 2, 1 x 1 ml

Codice LC94016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Calibratore plasmatico – Livello 3, 1 x 1 ml

Codice LC94016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Calibratore plasmatico – Livello 4, 1 x 1 ml

Codice LC94016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Calibratore plasmatico – Livello 5, 1 x 1 ml

Codice LC94016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

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

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

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento LC-MS triplo quadrupolo
Modalità di lavoro MRM, ESI positivo

Dotazione opzionale :

Autocampionatore

Modalità per il prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue in una provetta con anticoagulante **EDTA**. Centrifugare **immediatamente** a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il plasma e stoccarlo a -20 °C. Stabile 1 mese.

Indice Riferimenti Bibliografici

Marangon E. et al., *PLoS One* (2015); **10**: e0118194

Satoh T. et al., *Anticancer Research* (2013); **33**:3845 - 3854

Xun C., et al., *Cancer Res Clin Oncol* (2013); **139**:1579–1589

Sparreboom A. et al., *British Journal of Cancer* (2004); **90**:1508 – 1515

Xie R. et al., *Clinical Pharmacology & Therapeutics* (2002); **72**:265-75

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 :

In eppendorf dispensare in sequenza.

	Matrix Blank	Calibratore – Livello 1	Calibratore – Livello 2	Calibratore – Livello 3	Calibratore – Livello 4	Calibratore – Livello 5	Campione	Controlli
Matrix Blank	100 µl							
Calibratore – Livello 1		100 µl						
Calibratore – Livello 2			100 µl					
Calibratore – Livello 3				100 µl				
Calibratore – Livello 4					100 µl			
Calibratore – Livello 5						100 µl		
Campione							100 µl	
Controlli								100 µl
Reagente A – Soluzione Deproteinizante + Standard interno	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl	400 µl

Al vortex per 20 secondi

FASE 2: Centrifugare a 14.000 giri per 5 minuti.

N.B.: il campione così preparato è stabile 1 giorno a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 20 µl del surnatante nel sistema LC

IRINOTECANO/SN38 PLASMATICI - Avvertenze

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova Hypersil Gold (50 x 2,1 mm, 3,0 µm) e Hypersil Gold (50 x 2,1 mm, 1,9 µm) per UHPLC, termostata a 25 °C Disconnettere il detector e far passare una soluzione di Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (95 : 5 v/v) al flusso di 300 µl / minuto per 30 minuti. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con una soluzione di Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (95 : 5 v/v) al flusso di 300 µl / minuto per 15 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

Lavare con una soluzione contenente Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (95 : 5 v/v) al flusso di 300 µl / minuto per 30 minuti. **Si raccomanda di eseguire il lavaggio della Colonna Analitica alla fine di ogni seduta analitica.** La colonna va stoccata in una soluzione contenente Fase Mobile M2 : Fase Mobile M1 (95 : 5 v/v).

LAVAGGIO AGO DI INIEZIONE

Lavare con una soluzione contenente Metanolo o Acetonitrile.

PARAMETRI ESI Waters TQD

Capillary: 2.90 KV
Temperature Desolvation: 400 °C
Desolvation (L/Hr): 1000

SETTAGGIO DEI FLUSSI

GRADIENTE			
Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0.00	95	5	300
0.50	95	5	300
1.50	0	100	300
3.00	0	100	300
3.01	95	5	300
5.00	95	5	300

FRAMMENTAZIONI (ottimizzate su TRIPLO QUADRUPOLO Sciex 4500)

Analita	Precursor Ion	Product Ion	Collision Energy	Fragmentor	Polarity
IRINOTECANO	587.7	167.1 – 124.2	45 – 41	214	Positive
SN-38	393.4	349.1 – 293.1	21 - 33	141	Positive
IRINOTECANO-D10	597.4	177.2 – 133.2	45 - 41	201	Positive

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC94016	Calibratore plasmatico per Irinotecano/SN38	5 x 2 x 1 ml
LC94019	Controllo plasmatico per Irinotecano/SN38 – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
Per sistemi HPLC		
ZTF2500305213	Colonna analitica Hypersil Gold (50 x 2.1 mm – 3.0 um)	1 Pz
Per sistemi UHPLC		
Z25002052130	Colonna analitica Hypersil Gold (50 x 2.1 mm - 1.9 um)	1 Pz
S51843550	Vial di vetro a volume ridotto	1 x 100 Pz
S51820717	Tappi per vial a volume ridotto	1 x 100 Pz
SK94010	Starter kit per Irinotecano/SN38	1 Pz

IRINOTECANO/SN38 PLASMATICI (Cromatogrammi di Riferimento)

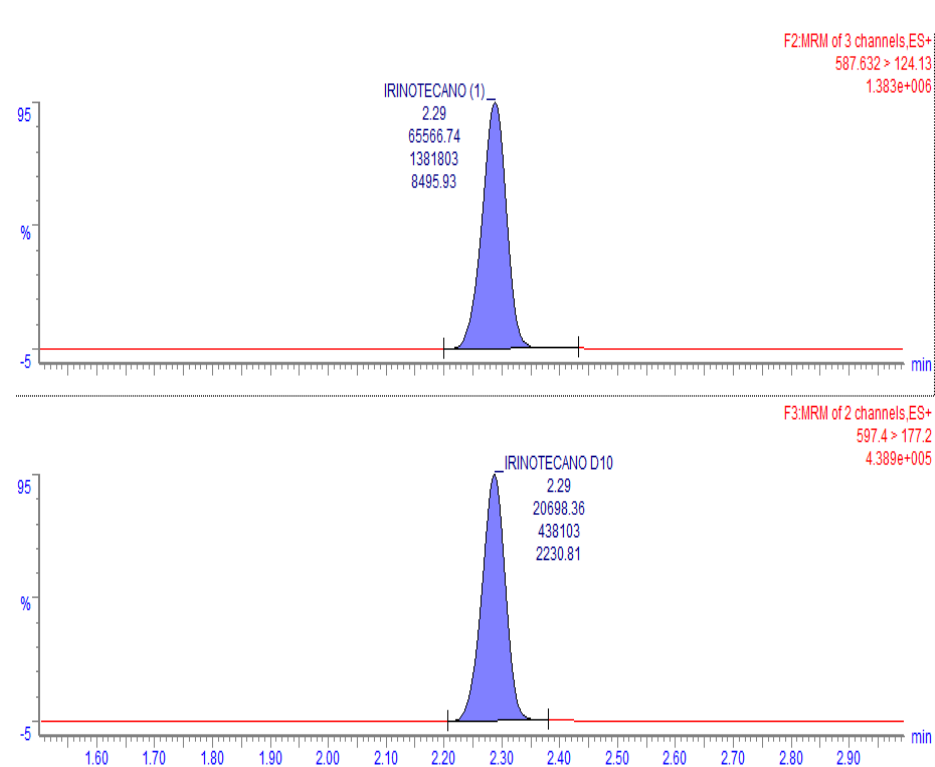


Fig. 1 :	Calibratore plasmatico
R.T. 2.29	Irinotecano 500 ng/ml
R.T. 2.29	Irinotecano-D10

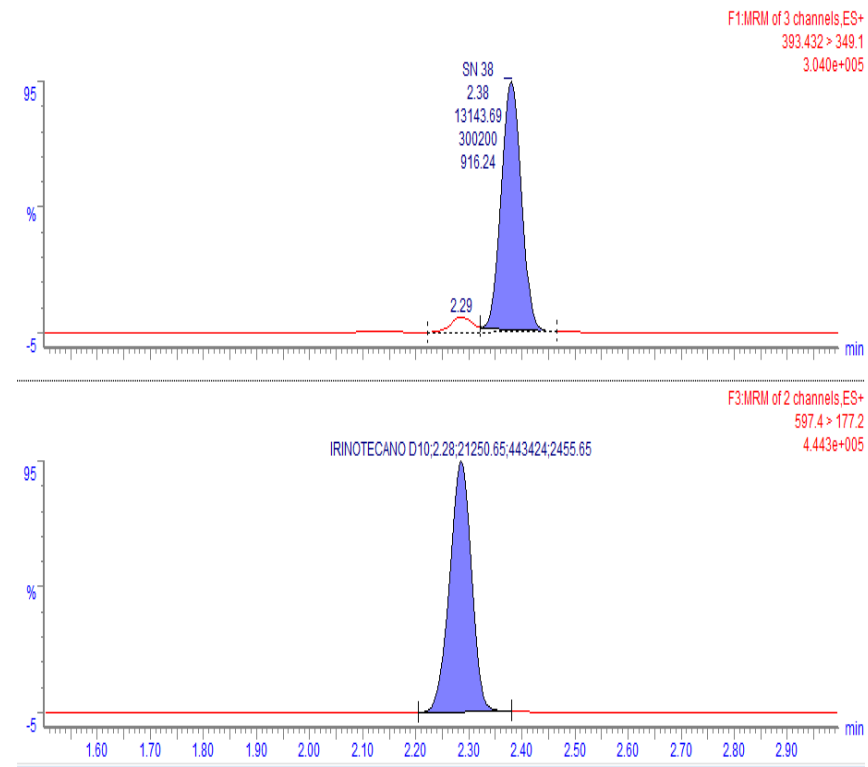


Fig. 2 :	Calibratore plasmatico
R.T. 2.38	SN38 50 ng/ml
R.T. 2.28	Irinotecano-D10