

ANTIPSYCHOTICI PLASMATICI IN LC/MS

Cod. LC83010





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° 003		11/2024
--------	--	---------

INTRODUZIONE

Gli antipsicotici (o neurolettici) sono farmaci che agiscono sulla psiche, usati nella terapia delle psicosi, soprattutto di quelle deliranti e allucinatorie. Gli antipsicotici vengono impiegati, se strettamente necessario, anche nei disturbi allucinatori e negli stati di agitazione neuromotoria di malattie non psicotiche, quali le demenze e alcuni tumori cerebrali temporali, o alcune leucodistrofie. I farmaci neurolettici sono il caposaldo della terapia delle psicosi, le quali, essendo malattie con un substrato organico cerebrale, necessitano di antagonisti specifici delle alterazioni metaboliche e interneuronali nel sistema nervoso centrale. Caratteristica della terapia delle psicosi è che nella maggior parte dei casi non deve essere interrotta, neppure e specialmente nei periodi intercritici. Nonostante i loro effetti anche sedativi, i neurolettici non vengono somministrati per sedare il paziente o per farlo dormire, bensì per controllare i disturbi del comportamento e dell'ideazione, pur riducendo l'agitazione e l'aggressività. I pazienti sviluppano nel tempo tolleranza agli effetti sedativi dei neurolettici.

Meccanismi d'azione dei neurolettici tipici. Gli effetti farmacologici dei neurolettici si svolgono a tutti i livelli del sistema nervoso, utilizzando per la maggior parte di essi le vie dopaminergiche: antagonizzano l'azione di neurotrasmettitore della dopamina sia a livello della corteccia cerebrale sia della corteccia limbica sia dei gangli della base encefalica. Dato che nelle psicosi vi sono disturbi delle funzioni superiori e dei processi cognitivi, gli antipsicotici interagiscono con la dopamina nelle fibre dirette alle regioni prefrontali e temporali profonde; non sviluppano tolleranza, ma possono ridurre nella corteccia la soglia per un attacco convulsivo. A livello dei gangli della base i neurolettici inducono alterazioni funzionali per l'antagonismo alla dopamina; l'effetto iniziale sembra legato al blocco dei recettori D2 della dopamina, seguito da una transitoria attivazione con maggior rilascio di dopamina, e infine da una riduzione dell'attività neuronale.

Effetti collaterali dei neurolettici tipici. Oltre all'abbassamento della soglia epilettogena, che raramente provoca epilessia durante la loro cronica somministrazione, gli effetti collaterali presenti nella quasi totalità dei casi sono i sintomi extrapiramidali, molto simili a quelli del morbo di Parkinson: rigidità, amimia, tremori, acatisia. Essi sono legati all'azione sui gangli della base. Sintomi tossici sono rari, legati al concomitante uso di alcol. Possono dare prolungamento dell'intervallo QT dell'elettrocardiogramma. Molti neurolettici provocano aumento ponderale, legato sia all'iperfagia che a una insulinoresistenza.

Il loro dosaggio nel plasma ha quindi un ruolo importante.

Fonte Dizionario Medico Treccani

CARATTERISTICHE DEL KIT

SENSIBILITÀ DEL METODO (LLOD):	Clozapina Norclozapina Olanzapina Risperidone Quetiapina Ziprasidone Aloperidolo Aripiprazolo Flufenazina Paliperidone	0,1 ng/ml 0,1 ng/ml 0,1 ng/ml 0,1 ng/ml 0,1 ng/ml 0,1 ng/ml 0,1 ng/ml 5 ng/ml 0,1 ng/ml 0,1 ng/ml
MINIMA CONCENTRAZIONE ANALIZZABILE (LLOQ):	Clozapina Norclozapina Olanzapina Risperidone Quetiapina Ziprasidone Aloperidolo Aripiprazolo Flufenazina Paliperidone	0,5 ng/ml 0,5 ng/ml 0,5 ng/ml 0,5 ng/ml 0,5 ng/ml 0,5 ng/ml 0,5 ng/ml 25 ng/ml 0,5 ng/ml 0,5 ng/ml
LINEARITÀ DEL METODO:	Clozapina Norclozapina Olanzapina Risperidone Quetiapina Ziprasidone Aloperidolo Aripiprazolo Flufenazina Paliperidone	0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 25 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml 0,5 – 5.000 ng/ml

Farmaci e metaboliti	Range terapeutici di riferimento (ng/mL)	Livello di allerta (ng/mL)
Clozapina	350-600	1000
Norclozapina	100-600	N.D.
Olanzapina	20-80	100
Risperidone + 9-Idrossi-Risperidone	20-60	120
Quetiapina	100-500	1000
Ziprasidone	50-200	400
Aloperidolo	1-10	15
Aripiprazolo	100-350	1000
Flufenazina	1-10	15
Paliperidone	20-60	120

Indice Riferimenti Bibliografici

1-(*) Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Neuropsychopharmacology: Update 2017

<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Clozapina:</u>	Ci	Cs	
	250 ng/ml	1000 ng/ml	
	3,55%	4,56%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Clozapina:</u>	Ci	Cs	
	250 ng/ml	1000 ng/ml	
	5,51%	5,30%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Clozapina:</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	500 ng/ml	1500 ng/ml
	5,54%	1,72%	3,96%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Clozapina:</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	500 ng/ml	1500 ng/ml
	10,03%	7,04%	10,8%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9932 ± 0,0004 Clozapina		

<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Norclozapina:</u>	Ci 250 ng/ml 4,39%	Cs 1000 ng/ml 3,85%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Norclozapina:</u>	Ci 250 ng/ml 9,64%	Cs 1000 ng/ml 6,54%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Norclozapina:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 5,99%	Cm 500 ng/ml 1,06%	CUP 1500 ng/ml 3,67%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Norclozapina:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 7,06%	Cm 500 ng/ml 8,15%	CUP 1500 ng/ml 8,65%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9915 ± 0,0018 Norclozapina		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Olanzapina:</u>	Ci 5 ng/ml 7,58%	Cs 50 ng/ml 3,55%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Olanzapina:</u>	Ci 5 ng/ml 11,85%	Cs 50 ng/ml 6,36%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Olanzapina:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 3,88%	Cm 25 ng/ml 6,47%	CUP 150 ng/ml 1,77%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Olanzapina:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 5,60%	Cm 25 ng/ml 10,43%	CUP 150 ng/ml 7,85%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9964 ± 0,0023 Olanzapina		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Risperidone:</u>	Ci 5 ng/ml 8,19%	Cs 50 ng/ml 0,86%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Risperidone:</u>	Ci 5 ng/ml 8,95%	Cs 50 ng/ml 8,15%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Risperidone:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 4,28%	Cm 25 ng/ml 3,58%	CUP 150 ng/ml 3,44%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Risperidone:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 12,11%	Cm 25 ng/ml 8,18%	CUP 150 ng/ml 13,45%

<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9965 ± 0,0026 Risperidone		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Quetiapina:</u>	Ci 250 ng/ml 5,53%	Cs 1000 ng/ml 2,05%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Quetiapina:</u>	Ci 250 ng/ml 6,95%	Cs 1000 ng/ml 3,45%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Quetiapina:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 3,88%	Cm 500 ng/ml 1,71%	CUP 1500 ng/ml 2,00%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Quetiapina:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 3,06%	Cm 500 ng/ml 5,77%	CUP 1500 ng/ml 10,84%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9948 ± 0,0018 Quetiapina		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Ziprasidone:</u>	Ci 250 ng/ml 7,88%	Cs 1000 ng/ml 3,99%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Ziprasidone:</u>	Ci 250 ng/ml 9,93%	Cs 1000 ng/ml 4,40%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Ziprasidone:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 6,02%	Cm 500 ng/ml 7,36%	CUP 1500 ng/ml 1,84%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Ziprasidone:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 12,41%	Cm 500 ng/ml 9,32%	CUP 1500 ng/ml 14,13%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9926 ± 0,0027 Ziprasidone		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Aloperidolo:</u>	Ci 5 ng/ml 8,70%	Cs 50 ng/ml 8,70%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Aloperidolo:</u>	Ci 5 ng/ml 14,76%	Cs 50 ng/ml 11,07%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Aloperidolo:</u>	C LLOQ 0,5 ng/ml 2,39%	Cm 25 ng/ml 9,52%	CUP 150 ng/ml 2,63%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di</u>	C LLOQ	Cm	CUP

<u>variazione %) Aloperidolo:</u>	0,5 ng/ml	25 ng/ml	150 ng/ml
	6,50%	11,41%	6,94%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9938 ± 0,0026 Aloperidolo		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %) Aripiprazolo:</u>	Ci	Cs	
	250 ng/ml	1000 ng/ml	
	10,75%	0,60%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %) Aripiprazolo:</u>	Ci	Cs	
	250 ng/ml	1000 ng/ml	
	11,60%	1,66%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Aripiprazolo:</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	25 ng/ml	500 ng/ml	1500 ng/ml
	6,07%	6,77%	3,14%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Aripiprazolo:</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	25 ng/ml	500 ng/ml	1500 ng/ml
	10,19%	8,87%	9,49%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9927 ± 0,0013 Aripiprazolo		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %) Flufenazina:</u>	Ci	Cs	
	5 ng/ml	50 ng/ml	
	10,05%	2,59%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %) Flufenazina:</u>	Ci	Cs	
	5 ng/ml	50 ng/ml	
	10,97%	3,97%	
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Flufenazina:</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	25 ng/ml	150 ng/ml
	8,92%	8,56%	2,39%
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Flufenazina:</u>	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	25 ng/ml	150 ng/ml
	13,41%	10,93%	5,30%
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9969 ± 0,0013 Flufenazina		
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %) Paliperidone:</u>	Ci	Cs	
	5 ng/ml	50 ng/ml	
	3,98%	1,66%	
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %) Paliperidone:</u>	Ci	Cs	
	5 ng/ml	50 ng/ml	
	10,53%	3,45%	

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Paliperidone:	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	25 ng/ml	150 ng/ml
	1,95%	5,23%	2,55%
Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Paliperidone:	C LLOQ	Cm	CUP
	0,5 ng/ml	25 ng/ml	150 ng/ml
	9,37%	15,17%	6,34%
Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:	0,9962 ± 0,0032 Paliperidone		

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (100 TEST)

Reagente A – Soluzione Deproteinizzante + Standard Interni	1 x 20 ml	Conservare a -20 °C
Reagente B – Soluzione Diluente	1 x 100 ml	
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 0	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 1	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 2	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 3	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 4	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 5	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Calibratore liofilo plasmatico – Livello 6	1 x 1 ml	Codice LC83016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Reagente M1 – Fase Mobile M1	1 x 500 ml	
Reagente M2 – Fase Mobile M2	2 x 500 ml	

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura ambiente, eccetto il Reagente A che va conservato a -20 °C. Per quanto riguarda la modalità di conservazione dello Standard di Calibrazione Liofilo, essa è descritta nella scheda tecnica dedicata.

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC83016	Calibratore liofilo in plasma per Antipsicotici	7 x 2 x 1 ml
LC83019	Controllo liofilo in plasma per Antipsicotici - Livelli 1, 2 e 3	3 x 5 x 1 ml

SK83010	Starter kit per Antipsicotici plasmatici	1 Pz
Z699675902	Colonna analitica Poroshell 120 EC-C18 (50 x 2,1 mm, 1,9 µm)	1 Pz

DOTAZIONE STRUMENTALE MINIMA RICHIESTA

Strumento LC-MS triplo quadrupolo

Modalità di lavoro MRM, ESI positivo

DOTAZIONE OPZIONALE

Autocampionatore
Computer gestionale.

MODALITÀ DI RACCOLTA SANGUE INTERO

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

Dispensare in una eppendorf:

- 50 µl di **Calibratore (C0-C6)/Controlli/Campioni**
- 200 µl di **Reagente A - Soluzione Deproteinizzante + Standard Interni**

Vortex per 30 sec.

Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti

FASE 2

Dispensare in una vial a calicetto:

- 100 µl di **surnatante**
- 900 µl di **Reagente B - Soluzione Diluente**

Vortex per 5 sec.

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

INIEZIONE

- Iniettare 2-10 µl della soluzione in HPLC (a seconda sella sensibilità strumentale)

ANTIPSICOTICI PLASMATICI in LC/MS - Avvertenze

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova Poroshell EC-C18 (50 x 2.1 mm, 1.9 µm) termostata a 40°C. Disconnettere il detector e far passare per 10 minuti una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (20 : 80 v/v) al flusso di 500 µl/minuto poi una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (90 : 10 v/v) al flusso di 500 µl/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con una soluzione di H₂O : Fase Mobile M2 (95 : 5 v/v) al flusso di 400 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

Disconnettere il detector. Flussare una soluzione di Fase Mobile M1 : Fase Mobile M2 (30 : 70 v/v) per 10 minuti al flusso di 500 µl/minuto. La colonna va stoccata in una soluzione di H₂O : Fase Mobile

LAVAGGIO DELL'AGO DI INIEZIONE

Lavare la siringa con Metanolo.

PARAMETRI ESI+ OTTIMIZZATI SU XEVO TQ-S micro

Capillary	3,50 kV
Desolvation Temperature	600 °C
Desolvation Gas	800 L/ora

Frammentazioni (ottimizzate su SU XEVO TQ-S micro)

Analita	Q1	Q3	IS per la calibrazione
Clozapina	327.3	84.0	Clozapina-D4
Norclozapina	313.3	192.1	Clozapina-D4
Olanzapina	313.2	256.1	Olanzapina-D8
Risperidone	411.4	191.2	Risperidone-D4
Quetiapina	384.3	253.1	Risperidone-D4
Ziprasidone	413.2	194.0	Risperidone-D4
Aloperidolo	376.3	123.0	Risperidone-D4
Aripiprazolo	449.3	98.2	Risperidone-D4

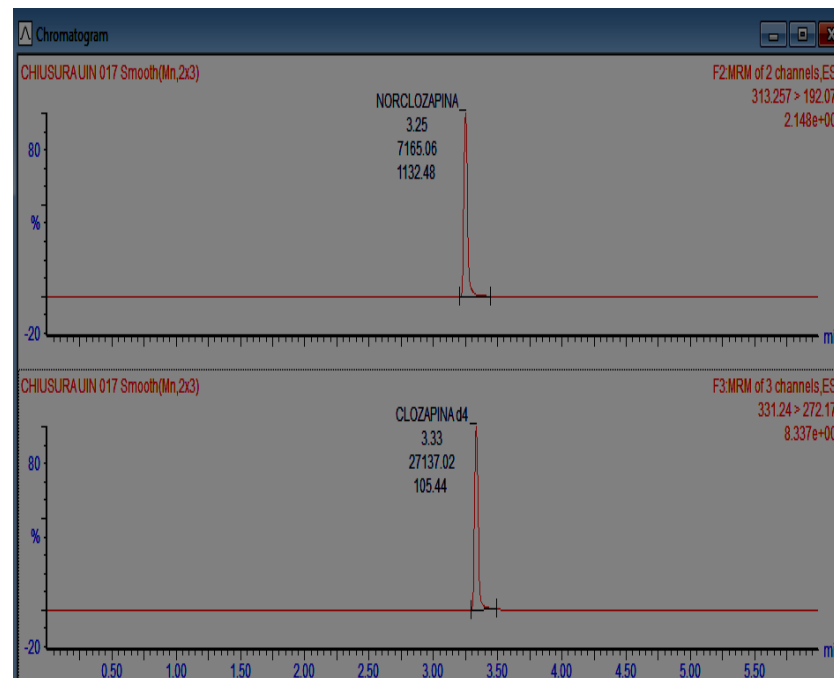
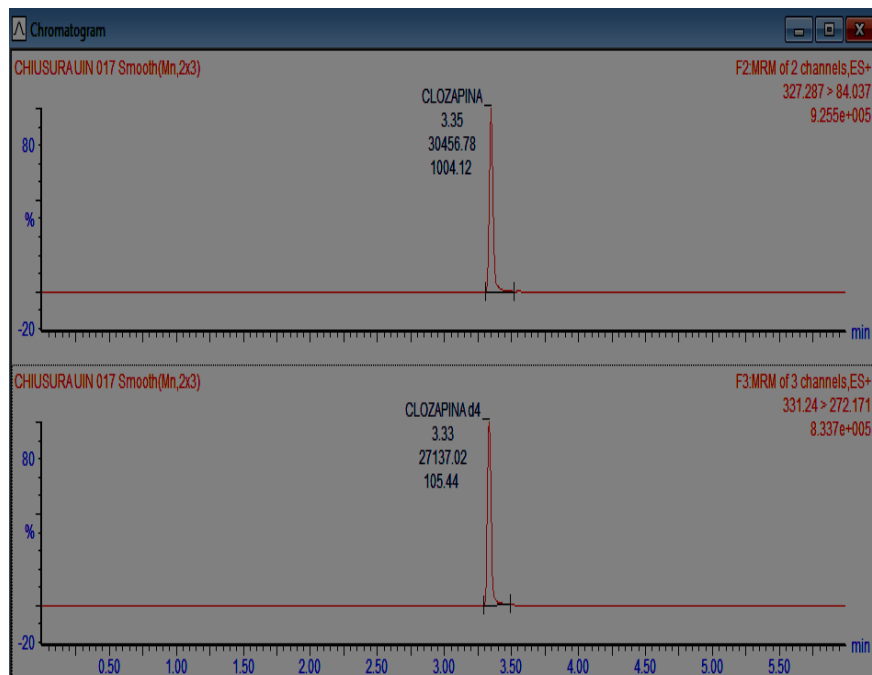
Flufenazina	438.2	171.0	Risperidone-D4
Paliperidone	427.3	207.1	Risperidone-D4
Olanzapina-D8	321.3	260.9	/
Clozapina-D4	331.2	272.2	/
Risperidone-D4	415.4	195.1	/

SETTAGGIO DELGRADIENTE

Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	FLUSSO (μ l/min)
0	98	2	400
0.5	98	2	400
4.0	25	75	400
4.01	2	98	400
6.0	2	98	400
6.01	98	2	400
9.0	98	2	400

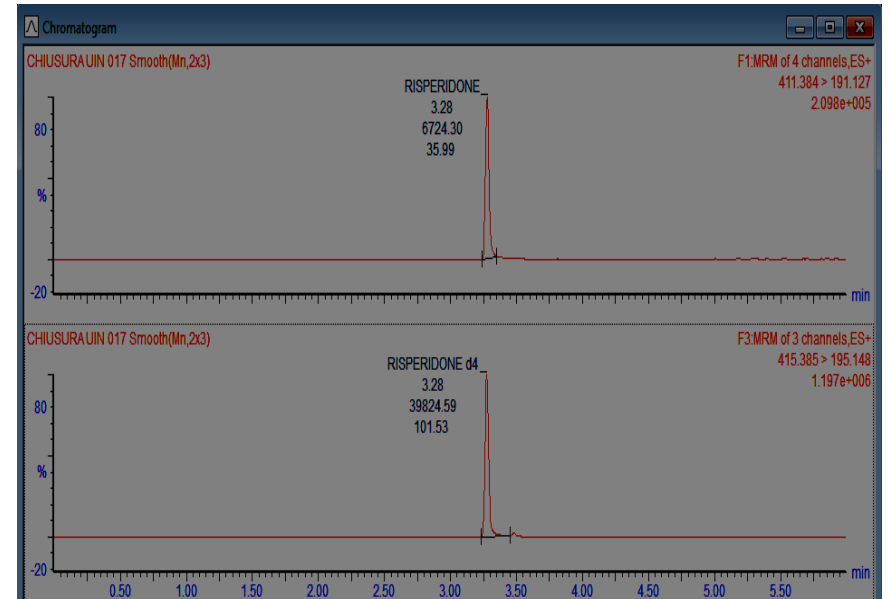
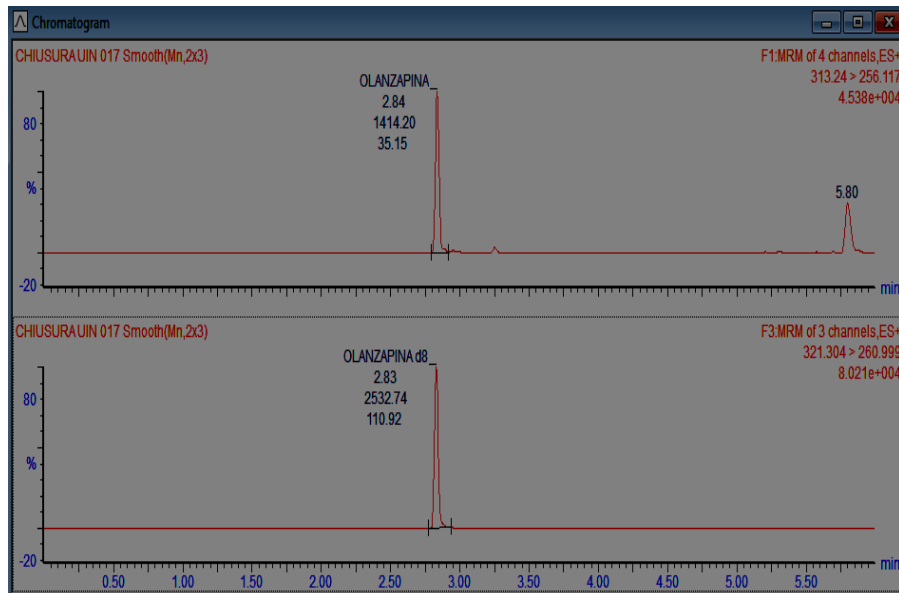
ANTIPSYCHOTICI PLASMATICI IN LC/MS

(Cromatogrammi di riferimento)



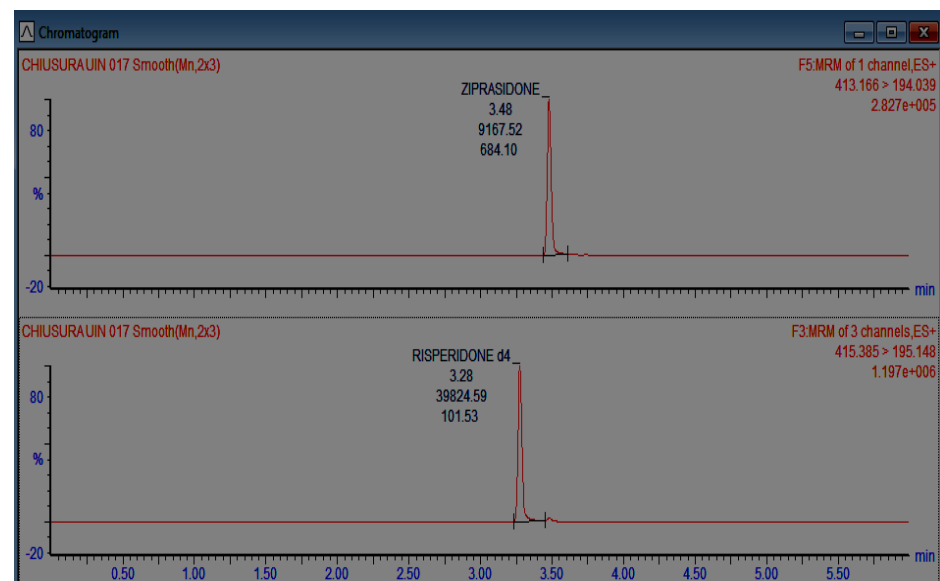
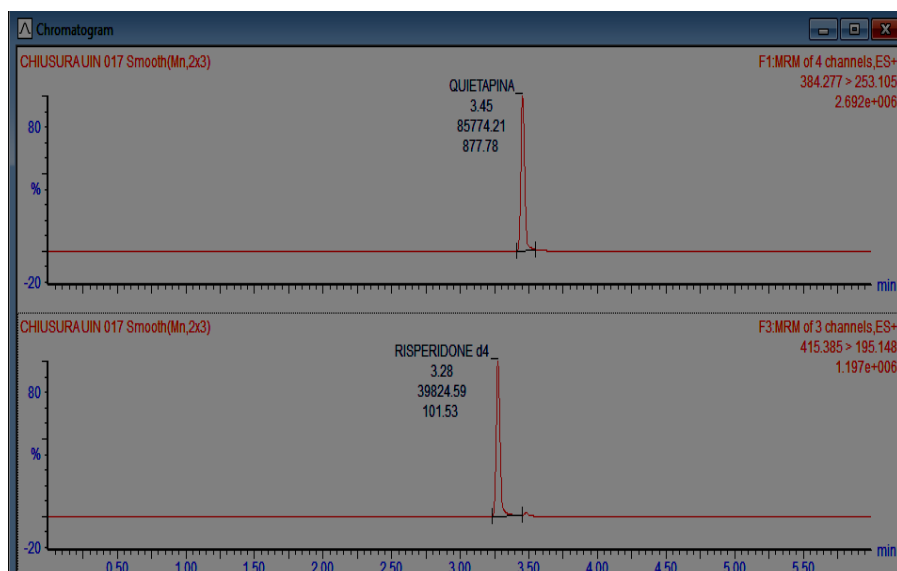
ANTIPSYCHOTICI PLASMATICI IN LC/MS

(Cromatogrammi di riferimento)



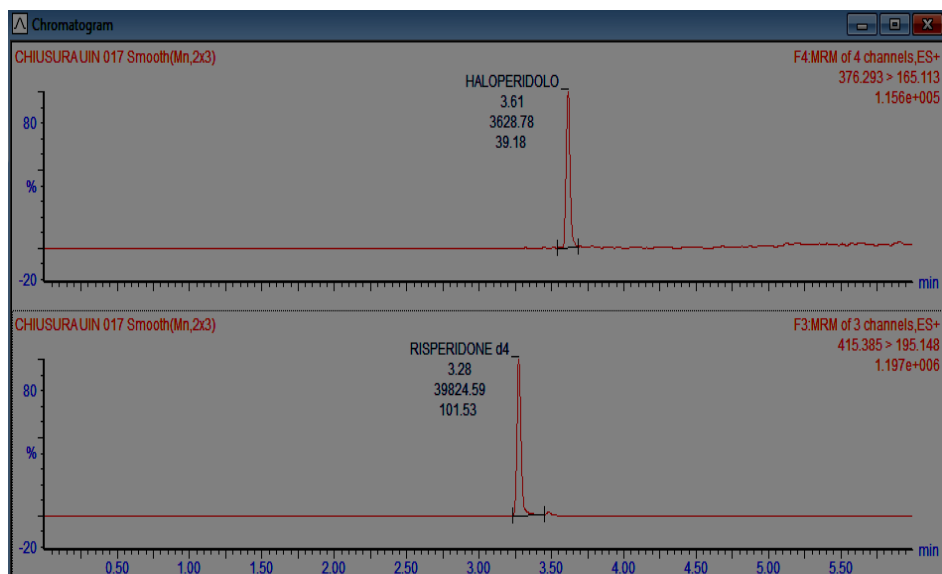
ANTIPSICOTICI PLASMATICI IN LC/MS

(Cromatogrammi di riferimento)

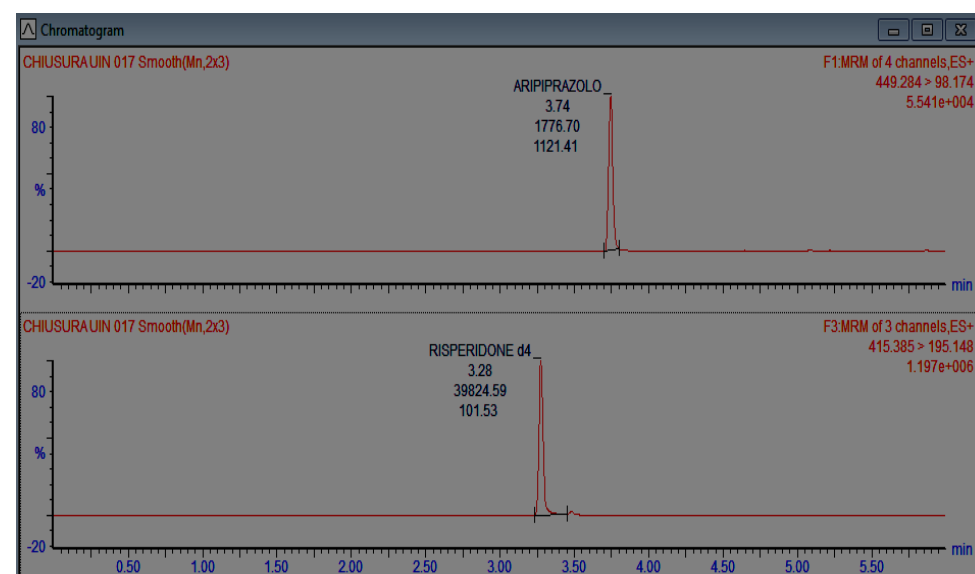


ANTIPSICOTICI

(Cromatogrammi di riferimento)

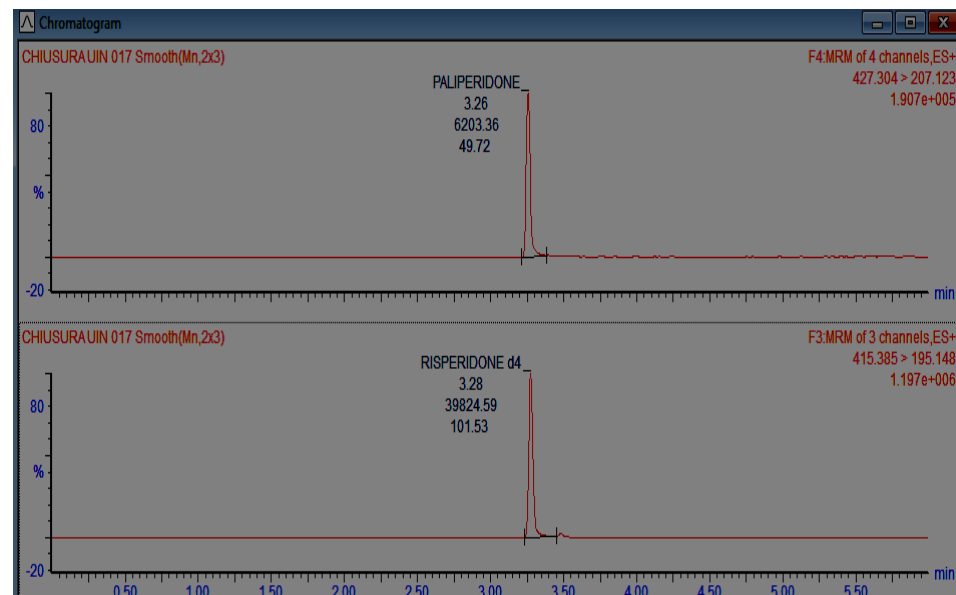
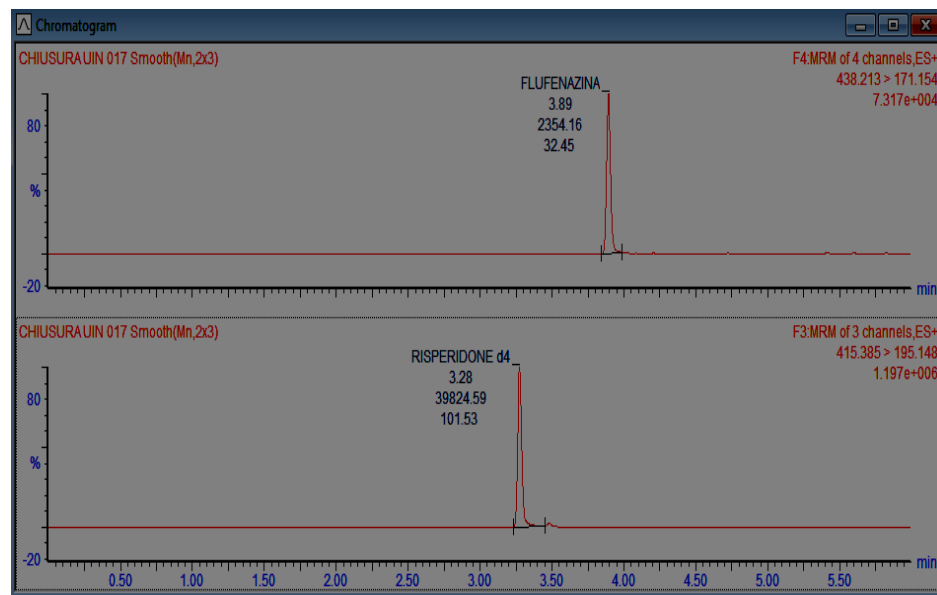


PLASMATICI IN LC/MS



ANTIPSICOTICI PLASMATICI IN LC/MS

(Cromatogrammi di riferimento)





eureka kit



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