

LAMOTRIGINA SIERICA e/o PLASMATICA in UV – FAST – Codice Z03310

BIOCHIMICA

La **Lamotrigina** o 3,5-Diamino-6-(2,3-Dichlorophenyl)-1,2,4-Triazine è un farmaco antiepilettico di uso clinico recente soprattutto nel Nord America. E' parzialmente solubile in acqua (< 1 mg/ml), ha un $pK_a = 5,5$. Assunto come farmaco, viene rapidamente e completamente assorbito nel tratto gastrointestinale; circa il 55% viene legato alle proteine plasmatiche e ha un volume di distribuzione di 1,1 ml/kg. Ha un tempo di dimezzamento di circa 26 ore e circa un 10% viene eliminato immodificato.

Secondo Jawad et al. (1), farmaci antiepilettici come la **Carbamazepina**, la **Fenitoina**, il **Fenobarbital** e il **Primidone** causano una riduzione del tempo di dimezzamento della **Lamotrigina** di circa il 50 %, mentre l'**Acido Valproico** lo raddoppia.

Per contro, la **Carbamazepina**, se associata alla **Lamotrigina**, aumenta del 45% la produzione di **Carbamazepina-10,11-Epossido**, per probabile meccanismo farmacodinamico (Wolf) (2).

La determinazione dei livelli plasmatici della **Lamotrigina** è indicata particolarmente nei pazienti in politerapia per evitare possibili fenomeni di accumulo; nel caso di terapia associata con Carbamazepina, si raccomanda anche la determinazione dei livelli plasmatici di Carbamazepina-10,11-Epossido.

Bibliografia:

1. Jawad S, Oxley J, Yuen WC, Richens A. - The effect of Lamotrigine, a novel anticonvulsant on interictal spikes in patients with epilepsy. Br. J. Cl. Pharmacol 1986 - 22- 191 - 3
2. Wolf P. - Lamotrigine. Preliminary clinical observations on pharmacokinetics and interactions with traditional antiepileptic drugs. J. Epilepsy 1992 - 5 - 73 - 9

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° 002	Lamotrigina sierica e/o plasmatica in UV - FAST	09/2024
--------	---	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del Metodo :

Il presente metodo consente di determinare le concentrazioni plasmatiche o sieriche della **Lamotrigina** dopo deproteinizzazione del plasma o del siero con un opportuno precipitante; dopo centrifugazione, ad una aliquota del sovranatante si aggiunge una soluzione stabilizzante e il campione così ottenuto viene iniettato nel cromatografo HPLC.

Recupero del Metodo : 100 %

Sensibilità del Metodo (LLOD) : 0,05 mg/l

Minima Concentrazione analizzabile (LLOQ) : 0,2 mg/l

Linearità del Metodo : 0,2 – 200 mg/l

Range Terapeutico: 3,0 – 14,0 mg/l

**Accuratezza intra serie (errore relativo %)
Lamotrigina :**

C1	C2
1 µg/ml	10 µg/ml
2,65%	3,96%

**Accuratezza inter serie (errore relativo %)
Lamotrigina :**

Ci	Cs
1 µg/ml	10 µg/ml
5,67%	2,95%

**Riproducibilità intra serie (coefficiente di
variazione %) Lamotrigina :**

C LLOQ	Cm	Cs
0,2 µg/ml	5 µg/ml	25 µg/ml
1,86%	2,16%	6,02%

**Riproducibilità inter serie (coefficiente di
variazione %) Lamotrigina :**

C LLOQ	Cm	Cs
0,2 µg/ml	5 µg/ml	25 µg/ml
2,36%	2,37%	5,61%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std

Lamotrigina 0,9955 ± 0,0021

<u>Contenuto della confezione :</u>	Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura Ambiente ($\leq 20\text{ }^{\circ}\text{C}$). Il Calibratore è stabile 36 mesi a $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$.
Reagente A - Soluzione Deproteinizzante con Standard Interno, 1 x 30 ml	
Reagente C - Soluzione Test, 1 x 2 ml	<u>Stoccare a $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$</u>
Calibratore liofilo , 1 x 2 ml	<u>Codice Z03016</u> <u>Confezionato a parte - vedi scheda tecnica</u>
Reagente M - Fase Mobile, 2 x 500 ml	

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da $10\text{ }\mu\text{l}$
Detector spettrofotometrico UV / VIS $\lambda=220\text{ nm}$
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore
Computer gestionale

Modalità di prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta senza gel per il siero e con Eparina come anticoagulante per il plasma.
Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti.
Separare il siero e stoccarlo a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabile 4 settimane.

Fase pre-analitica :

Se non si analizza subito, congelare il plasma a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabile 1 mese.

ATTENZIONE ai pazienti trattati in politerapia lamotrigina + rufinamide.

LA RUFINAMIDE ESCE CIRCA 0,2 MINUTI PRIMA DELLA LAMOTRIGINA

Su alcune linee HPLC la separazione potrebbe non essere alla linea di base.

Solitamente il paziente non viene sottoposto a dosaggio combinato lamotrigina +rufinamide*, per cui non dovrebbero sussistere problemi.

*Rational Polytherapy with Antiepileptic Drugs, J.W. Lee and B. Dworetzky, *Pharmaceuticals* **2010**, 3, 2362-2379

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test

In una provetta pipettare :

- 950 µl di H₂O di grado HPLC
- 50 µl di **Reagente C - Soluzione Test**

NOTA : Prima di iniziare la seduta analitica è consigliabile iniettare 5-10 µl di questa soluzione in HPLC per identificare il tempo di ritenzione della Lamotrigina che deve essere simile a quello riportato 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** : Questo Test così ottenuto non deve essere usato come calibratore

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparazione dei Campioni, dello standard e dei controlli

Dispensare in provetta :

	Calibratore	Controllo	Campione
Calibratore	200 µl		
Controllo		200 µl	
Campione			200 µl
Reagente A – Sol. Deproteinizzante	200 µl	200 µl	200 µl

Attenzione: si consiglia di deproteinizzare direttamente sul Vortex per almeno 10 secondi

FASE 2 : Centrifugare a 14.000 rpm per 5 minuti

FASE 3 : Prelevare 150 µl di sovrnatante limpido in una provetta.

Al vortex per 10 secondi

N.B.: il campione così preparato è stabile 3 giorni a 2-8 °C

INIEZIONE :

- Iniettare 5 - 10 µl del sovrnatante limpido nel cromatografo HPLC.

LAMOTRIGINA - Avvertenze

REAGENTE C : SOLUZIONE TEST

LAMOTRIGINA	Circa 85,6 mg/l
-------------	-----------------

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	220 nm
GAIN	0,001 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 secondi

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare la colonna analitica Reverse Phase POROSHELL C18 4,6 x 50 mm, 2,7 μ , è tassativo l'uso dei Prefiltri Javelin (1 x 10 pz.) cod. S90199511.
--

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica <u>nuova</u> Reverse Phase POROSHELL C18 4,6 x 50 mm, 2,7 μ . Disconnettere il detector e far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (20 : 80 v/v) e successivamente 30 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (80 : 20 v/v) al flusso di 1,0 ml/minuto. Non riciclare i liquidi di lavaggio . Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1,0 ml/minuto per 15 minuti. Al termine, iniettare il Test chimico e verificare la congruità della separazione. NON è possibile 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 15 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v/v) al flusso di 1,4 ml/minuto e scaricare. La colonna va stoccata in una soluzione di H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v/v) . Si raccomanda di eseguire il lavaggio della colonna alla fine di ogni seduta analitica.
--

LAVAGGIO AGO DI INIEZIONE

Flussare 15 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile (80 : 20 v/v) al flusso di 1,0 ml/minuto.

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1,0 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 130 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z03016	Calibratore per Lamotrigina sierica e/o plasmatica	4 x 2 ml
Z03019	Controllo per Lamotrigina sierica e/o plasmatica - Livelli 1 e 2	2 x 5 x 2 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell C 18 (50 x 4,6mm -2,7 μ m)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 PZ

LAMOTRIGINA PLASMATICA e/o SIERICA
(Cromatogrammi di Riferimento)

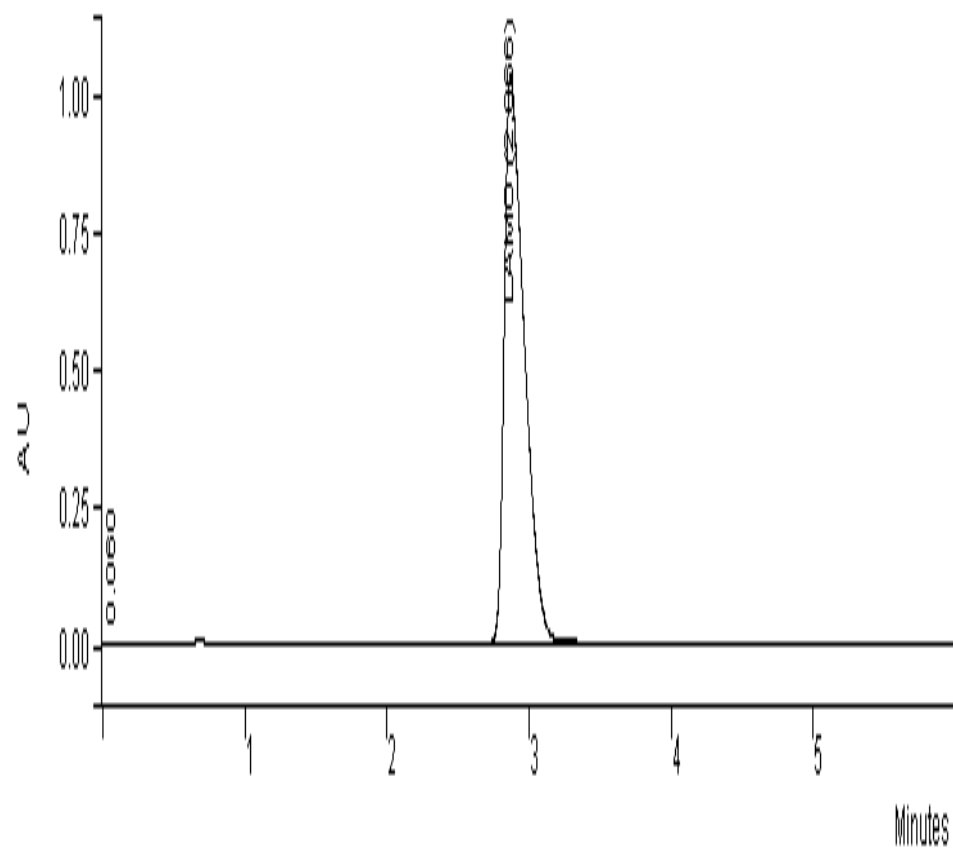


Fig. 1	Soluzione Test
	R.T. 2.86 Lamotrigina

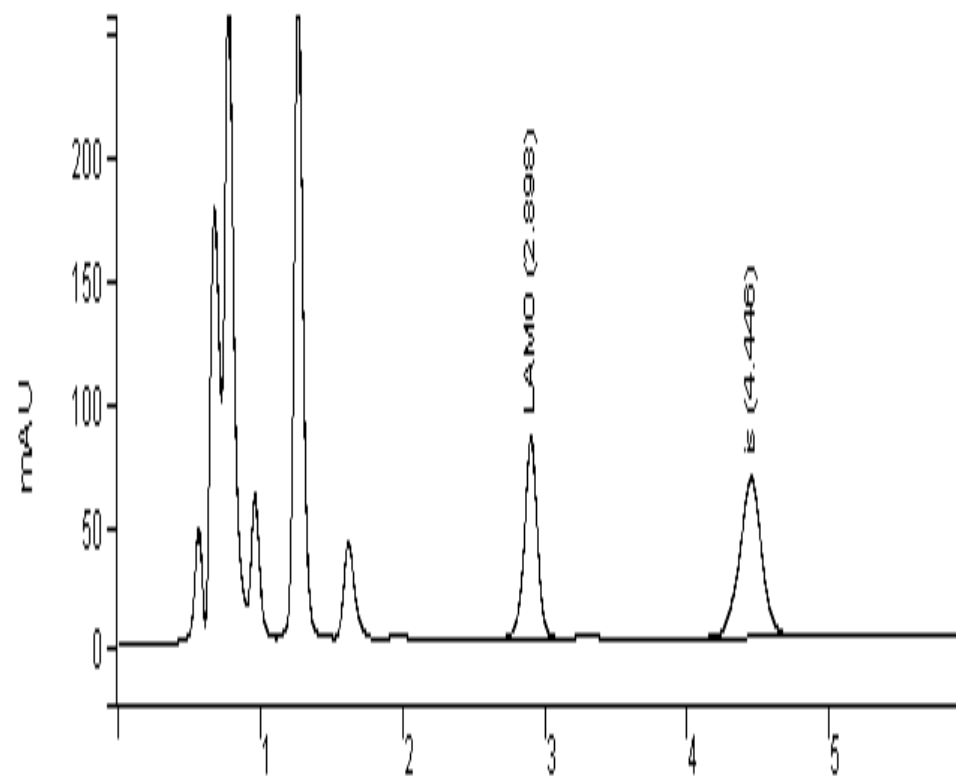


Fig. 2	Calibratore liofilo plasmatico
	R.T. 2.89 Lamotrigina 25 mg/l
	R.T. 4.44 Std Interno