

AMIODARONE e DESETILAMIODARONE SIERICI e/o PLASMATICI in UV - FAST
Codice Z33610

INTRODUZIONE

L' Amiodarone {Butil-2-(diedro-3,5 β -N-dietilaminoetossi-4-benzoil)-3-benzofurano)} di PM=654,32 è un farmaco antiaritmico usato per il trattamento delle aritmie sopraventricolari e ventricolari, laddove altre molecole antiaritmiche siano inefficaci.

L'Amiodarone ha la capacità di bloccare gli α e β adrenorecettori.

Esiste una correlazione tra la dose orale assunta e le concentrazioni nei tessuti bersaglio e nel plasma, ma le concentrazioni plasmatiche in pazienti diversi che assumono la stessa dose possono variare sensibilmente.

L' efficienza dell' Amiodarone si esplica a concentrazioni prossime a 1,0 mg/litro, mentre a concentrazioni > di 2,5 mg/litro risulta tossico.

L'Amiodarone è legato alle proteine plasmatiche per circa il 96%.

Il suo maggior metabolita attivo è l'N-desetil-amiodarone.

E' una molecola altamente instabile; prove eseguite ponendo 5 μ g/ml di Amiodarone in una soluzione fisiologica a pH=7,4 in provette di plastica, hanno dimostrato, dopo 12 minuti, a temperatura ambiente, una diminuzione di concentrazione pari al 20%; la stessa soluzione dopo 4 giorni a 5°C conteneva solo il 10% del farmaco immodificato.

L'Amiodarone risulta invece stabile in una soluzione etanolica al 50%.

Risulta inoltre stabile per oltre 6 settimane se conservato in provette di vetro, a -20 °C.

 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° 007	Amiodarone e Desetilamiodarone sierici e/o plasmatici in UV - FAST	09/2024
--------	--	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

L'Amiodarone e il Desetilamiodarone vengono isolati deproteinizzando il plasma con un reagente selettivo contenente lo Standard interno. 10 µl dell'estratto vengono direttamente iniettati in HPLC.

Recupero del Metodo :

100 %

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

0,05 mg/l

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) :

0,15 mg/l

Linearità del Metodo :

0,15 – 30 mg/l

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Amiodarone :

Ci	Cs
0,2 mg/l	2 mg/l
6,0%	4,0%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Amiodarone :

Ci	Cs
0,2 mg/l	2 mg/l
6,1%	4,0%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Amiodarone :

C LLOQ	Cm	Cs
0,15 mg/l	1 mg/l	5 mg/l
4,5%	3,4%	2,4%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Amiodarone :

C LLOQ	Cm	Cs
0,15 mg/l	20 mg/l	40 mg/l
6,0%	4,1%	2,9%

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Desetilamiodarone :

Ci	Cs
0,2 mg/l	2 mg/l
6,1%	2,9%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Desetilamiodarone :

Ci	Cs
0,2 mg/l	2 mg/l
8,3%	4,4%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Desetilamiodarone :

C LLOQ	Cm	Cs
0,15 mg/l	1 mg/l	5 mg/l
4,1%	2,4%	1,0%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Desetilamiodarone :

C LLOQ	Cm	Cs
0,15 mg/l	20 mg/l	40 mg/l
8,7%	3,1%	1,6%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev Std :

0,9937 ± 0,0036 per entrambe

Range terapeutico nel plasma :

Amiodarone 0,25 – 2,00 mg/l

Desetilamiodarone 0,25 – 2,00 mg/l

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2-8° C.

Reagente A – Deproteinizzante con Standard interno, **1 x 30 ml**

Reagente B – Soluzione Test, **1 x 2 ml**

Reagente C – Soluzione Stabilizzante, **1 x 5 ml**

Calibratore Liofilo, **1 x 2 ml**

Codice Z33016

Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

Reagente M – Fase Mobile, **3 x 500 ml**

Dotazione strumentale minima richiesta :

HPLC isocratico con loop da 10 µl.
Detector spettrofotometrico UV/VIS $\lambda=242$ nm
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore.
Computer gestionale

Modalità per il prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta con EDTA come anticoagulante.
Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il siero in provetta di vetro e stoccarlo a – 20 °C.
Stabile 1 mese.

PROCEDURA PREANALITICA

Preparazione della Soluzione Test

In una provetta pipettare :

- 900 µl di Acqua grado HPLC
- 100 µl di **Reagente B – Soluzione Test**

INIEZIONE :

- Iniettare 10 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 nelle figure sottostanti. Se il Test ha dato esito positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico.

PROCEDURA ANALITICA

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

Dispensare in provetta conica da 1,5 ml con tappo:

	Calibratore	Campione
Calibratore	200 µl	
Campione		200 µl
Reagente A – Sol. Deproteinizzante	300 µl	300 µl

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

FASE 2 : Centrifugare a 14.000 rpm per 10 minuti

FASE 3 : Prelevare 300 µl di sovrantante limpido ed aggiungere 50 µl di **Reagente C – Soluzione Stabilizzante**

Vortex per 10 secondi

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

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della Soluzione così ottenuta nel cromatografo HPLC e attendere la stampa del cromatogramma.

AMIODARONE / DESETILAMIODARONE FAST - Avvertenze

REAGENTE B : SOLUZIONE TEST

Amiodarone	Circa 16,9 mg/l
Desetilamiodarone	Circa 7,6 mg/l

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	242 nm
GAIN	0,001 AUFS
TEMPO DI INTEGRAZIONE	10 secondi

PROTEZIONE DELLA COLONNA ANALITICA

Per salvaguardare il sistema completo POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 μ) è tassativo l'uso del Prefiltri Javelin (1 x 10 pz), cod. S90199511.

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica <u>nuova</u> POROSHELL 120 EC-C18 (50 x 4,6 mm, 2,7 μ). Disconnettere il detector Fluorimetrico e far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile (20 : 80 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto. Non riciclare i liquidi di lavaggio. Far passare 30 ml di una soluzione di H₂O : Acetonitrile (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 ml/minuto e scaricare i primi 20 ml. Al termine, iniettare il test chimico e verificare la congruità della separazione. E' possibile effettuare analisi a ricircolo di fase, purchè si abbia l'accortezza di filtrare la stessa Fase Mobile con filtro da 0,22 μ prima di ogni seduta analitica. Il segnale che la fase mobile deve essere cambiata è dato dal significativo innalzamento del rumore di fondo del detector Fluorimetrico. 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 H₂O : Acetonitrile o Metanolo (80 : 20 v / v) al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (30 : 70 v / v) per 30 minuti scaricandola. Si raccomanda di eseguire il lavaggio della Colonna Analitica alla fine di ogni seduta analitica. La colonna va stoccata in una soluzione di H₂O : Acetonitrile o Metanolo (30 : 70 v / v)
--

LAVAGGIO AGO INIEZIONE

Lavare con una soluzione di Acqua / Etanolo o Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v/v).
--

PARAMETRI HPLC

LOOP	10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1,5 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 110 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z33016	Calibratore plasmatico per Amiodarone/Desetilamiodarone	4 x 2 ml
Z33019	Controllo plasmatico per Amiodarone/Desetilamiodarone, Livelli 1 e 2	2 x 5 x 2 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120-EC-C 18 (50 x 4,6mm –2,7 μ m)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 μ l	1 x 100 PZ
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 μ l	1 x 100 PZ

AMIODARONE e DESETILAMIODARONE PLASMATICI in UV FAST

(Cromatogrammi di riferimento)

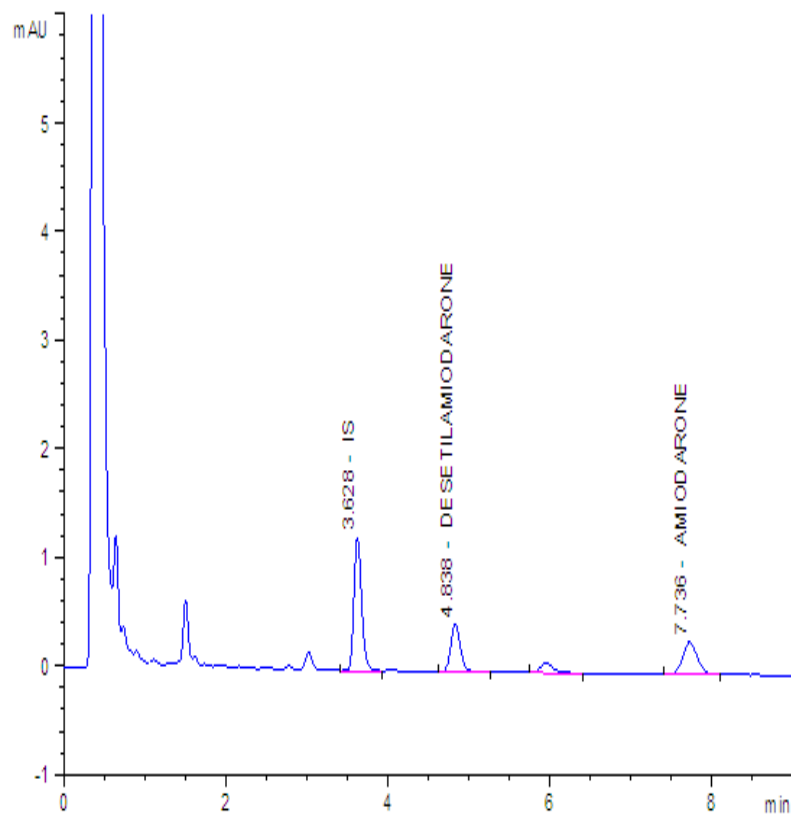


Fig. 1	Controllo plasmatico Livello 1
	R.T. 3.62 Std Interno
	R.T. 4.83 Desetilamiodarone 0,9 mg/l
	R.T. 7.73 Amiodarone 0,94 mg/l

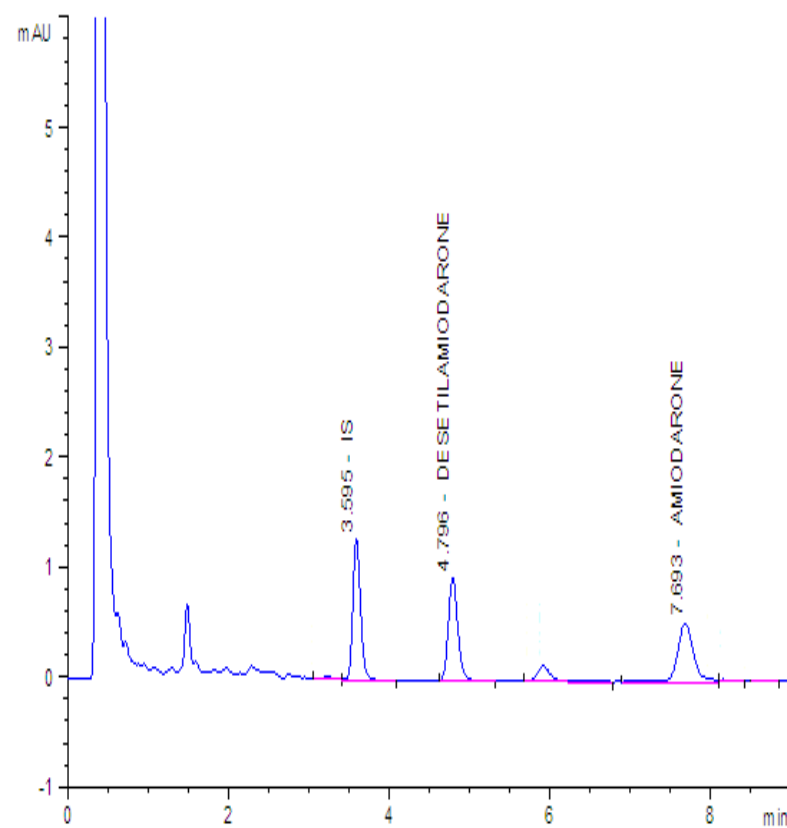


Fig. 2	Calibratore plasmatico
	R.T. 3.59 Std Interno
	R.T. 4.79 Desetilamiodarone 2,0 mg/l
	R.T. 7.69 Amiodarone 2,1 mg/l