

**LAMOTRIGINA e MONOIDROSSICARBAMAZEPINA sieriche e/o plasmatiche in UV –
FAST - Codice Z42110**

INTRODUZIONE

Il trattamento del paziente epilettico richiede il contributo multidisciplinare di competenze mediche, farmacologiche, psicologiche e sociali. In questo contesto pertanto, la terapia farmacologica e il conseguente monitoraggio rivestono un ruolo decisivo nel controllo immediato delle crisi epilettiche e nella prevenzione a medio e lungo termine delle ricadute.

Attualmente, grazie al monitoraggio delle concentrazioni plasmatiche dei farmaci antiepilettici, è in molti casi possibile modellare la terapia sul singolo paziente.

Il presente metodo consente di determinare simultaneamente le concentrazioni sieriche e/o plasmatiche dei seguenti farmaci antiepilettici :

1. *Lamotrigina*
2. *Monoidrossicarbamazepina*

 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



CE

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 e Monoidrossicarbamazepina in UV - FAST	06/2024
--------	---	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo :

Gli Antiepilettici vengono isolati trattando il plasma o il siero con un opportuno deproteinizzante. Dopo l'aggiunta di uno stabilizzante, la soluzione viene direttamente iniettata in HPLC.

Recupero del Metodo :

100 %

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

Lamotrigina 0,05 µg/ml
Monoidrossicarbamazepina 0,2 µg/ml

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) :

Lamotrigina 0,2 µg/ml
Monoidrossicarbamazepina 1 µg/ml

Linearità :

Lamotrigina 0,2 – 200 µg/ml
Monoidrossicarbamazepina 1 – 200 µg/ml

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Lamotrigina :

C1	C2
1 µg/ml	10 µg/ml
2,82%	2,62%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Lamotrigina :

Ci	Cs
1 µg/ml	10 µg/ml
9,24%	4,04%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Lamotrigina :

C LLOQ	Cm	Cs
0,2 µg/ml	5 µg/ml	25 µg/ml
0,83%	2,89%	1,49%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Lamotrigina :

C LLOQ	Cm	Cs
0,2 µg/ml	5 µg/ml	25 µg/ml
8,50%	5,71%	3,72%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std

Lamotrigina 0,9978 ± 0,0015

Accuratezza intra serie (errore relativo %) Monoidrossicarbamazepina :

C1	C2
5 µg/ml	25 µg/ml
2,95%	1,94%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) Monoidrossicarbamazepina :

Ci	Cs
5 µg/ml	25 µg/ml
3,78%	2,75%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) Monoidrossicarbamazepina :

C LLOQ	Cm	Cs
1 µg/ml	10 µg/ml	50 µg/ml
2,79%	3,92%	1,62%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) Monoidrossicarbamazepina :

C LLOQ	Cm	Cs
1 µg/ml	10 µg/ml	50 µg/ml
5,91%	7,88%	3,70%

Coefficiente di correlazione R2 + Dev. Std

Monoidrossicarbamazepina 0,9987 ± 0,0005

Range terapeutico nel plasma :

Lamotrigina 3 – 14 µg/ml
Monoidrossicarbamazepina 3 – 40 µg/ml

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a < 20 °C tranne i Calibratori liofili che sono stabili 36 mesi se stoccati a 2 – 8 °C.

Reagente A – Soluzione Deproteinizzante con Standard Interno, **1 x 20 ml**

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

Stoccare a 2-8 °C

Calibratore plasmatico, **1 x 2 ml**

Codice Z04216
Confezionato a parte - vedi scheda tecnica

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

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico con loop da 5 -10 µl
Detector spettrofotometrico UV / VIS $\lambda=220$ 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 °C. Stabile 4 settimane.

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

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 dei singoli Antiepilettici 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.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparazione dei Campioni

Dispensare in provette coniche da 1,5 ml tipo Eppendorf con tappo :

	Bianco	Calibratore	Campione
Acqua di grado HPLC	200 µl		
Calibratore		200 µl	
Campione			200 µl
Reagente A - Deproteinizzante con Standard Interno	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 : Trasferire 150 µl del sovranatante limpido in una provetta.

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

INIEZIONE :

- Iniettare 5 - 10 µl della soluzione nel cromatografo HPLC.

LAMOTRIGINA e MONOIDROSSICARBAMAZEPINA - Avvertenze

REAGENTE C: SOLUZIONE TEST

ANTIEPILETTICI :	
Lamotrigina	circa 53,5 mg/l
Monoidrossicarbamazepina	circa 100,0 mg/l

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	220 nm
GAIN	0,01 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 nuova 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	5 - 10 μ l
Flusso di lavoro consigliato	1,0 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 130 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z04216	Calibratore per Lamotrigina e Monoidrossicarbamazepina sieriche e/o plasmatiche	4 x 2 ml
Z04219	Controllo per Lamotrigina e Monoidrossicarbamazepina sieriche e/o plasmatiche - 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
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

LAMOTRIGINA e MONOIDROSSICARBAMAZEPINA SIERICHE E/O PLASMATICHE (Cromatogrammi di Riferimento)

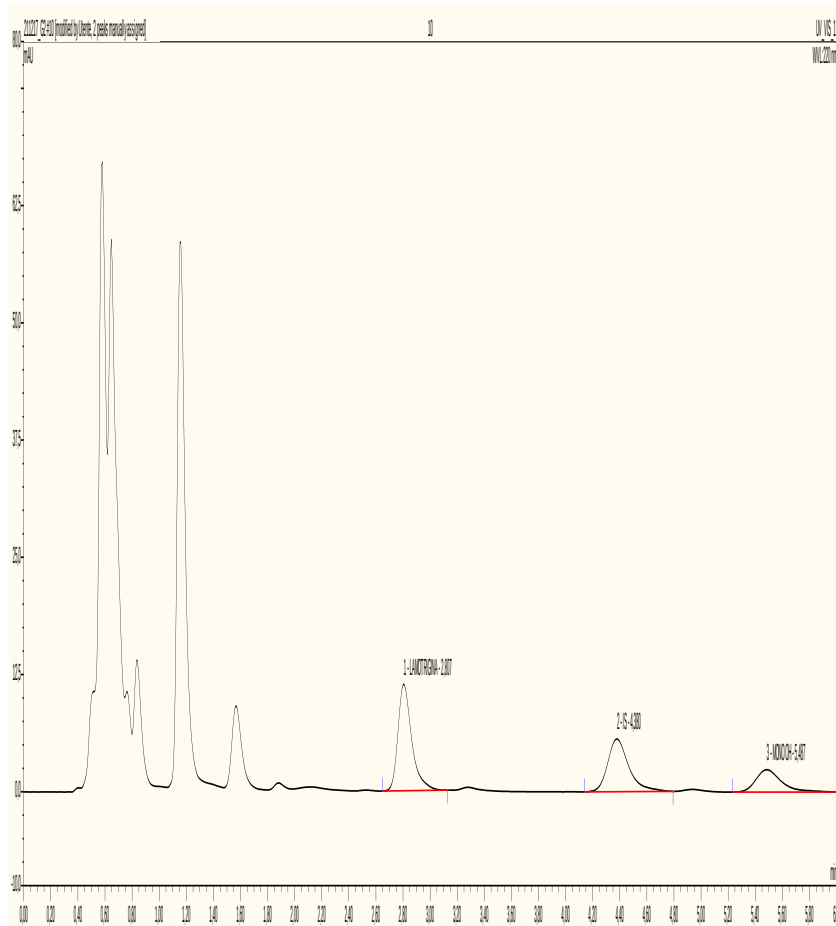


Fig. 1 :	Calibratore plasmatico	
	R.T. 2.80 Lamotrigina	10 ug/ml
	R.T. 4.38 Standard interno	
	R.T. 5.48 Monoidrossicarbamazepina	10 ug/ml

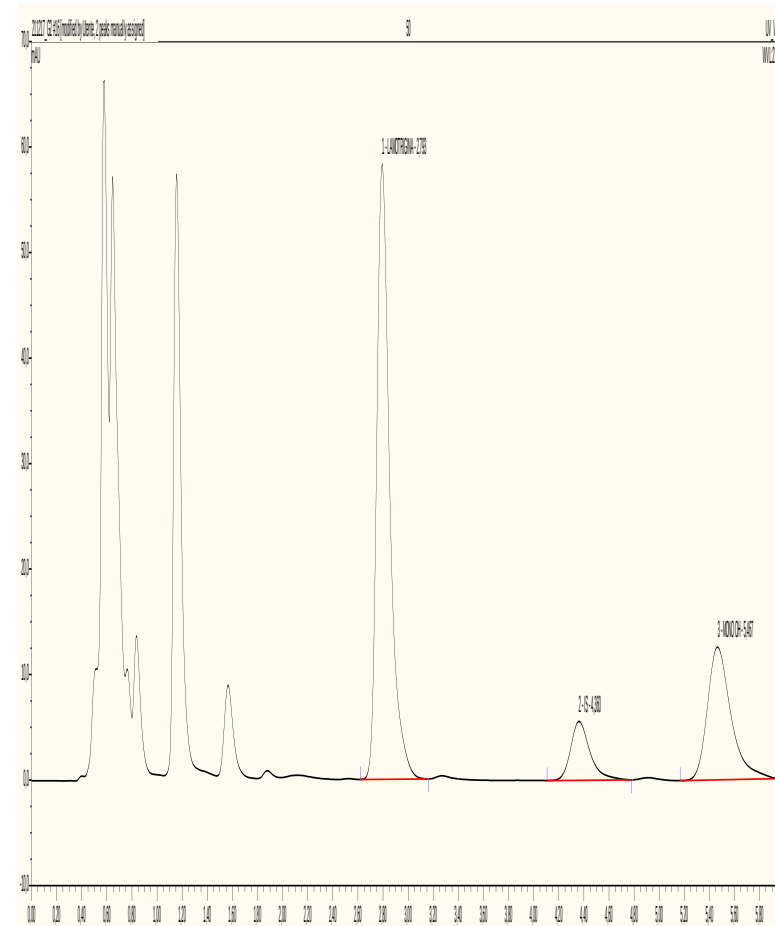


Fig. 2 :	Controllo plasmatico Livello 2	
	R.T. 2.79 Lamotrigina	50 ug/ml
	R.T. 4.36 Standard interno	
	R.T. 5.46 Monoidrossicarbamazepina	50 ug/ml