

ANTITUBERCOLARI PLASMATICI in LC/MS – Codice LC79110
(Etambutolo, Isoniazide, Rifampicina)

INTRODUZIONE

Tecnicamente si definisce “antibiotico” una sostanza di origine naturale prodotta da un microrganismo, capace di ucciderne un altro. Il termine nell'uso comune attuale indica un farmaco, di origine naturale o di sintesi (chemioterapico) in grado di rallentare o fermare la proliferazione dei batteri. Gli antibiotici si distinguono pertanto in batteriostatici (cioè bloccano la riproduzione del batterio, impedendone la scissione) e battericidi (cioè uccidono direttamente il microrganismo). Usualmente non hanno effetto contro i virus, i funghi ed i parassiti, sui quali agiscono altri generi di chemioterapici.

L' **etambutolo** è un principio attivo che si utilizza contro la tubercolosi. Farmaco chemioterapico antitubercolare attivo contro micobatteri resistenti ad altri farmaci comunemente usati per il trattamento della tubercolosi. Il dosaggio si attesta sui 15 mg/kg al giorno. Fra gli effetti collaterali più frequenti si riscontrano neurite ottica, neurite periferica, orticaria, trombocitopenia, rash cutaneo.

L'**isoniazide** è il principale antibiotico antitubercolare; agisce inibendo la sintesi degli acidi micolici, componenti essenziali della parete cellulare del batterio *Mycobacterium tuberculosis*. Fu sintetizzata per la prima volta nel 1912 ma la sua attività antibiotica fu scoperta solo nel 1951. Non viene mai usata da sola nel trattamento della tubercolosi per evitare l'insorgenza, altrimenti rapida, di forme di resistenza. L'isoniazide ha anche proprietà antidepressive, ed è stato uno dei primi antidepressivi scoperti.

La **Rifampicina** è un antibiotico battericida del gruppo delle rifamicine. È un composto semisintetico derivato dalla *Amycolaptosis rifamycinica* (conosciuta in passato come *Amycolaptosis mediterranei* o *Streptomyces mediterranei*). La rifampicina si abbrevia come **RIF, RMP, RD, RA** o **R**. È Conosciuta anche con il nome di rifaldazina, R/AMP e Rofact (in Canada). Ci sono varie rifamicine da cui deriva, ma questa forma particolare, con un gruppo 4-metil-1-piperazinaminile è quella clinicamente più efficace.

 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° 004	Antitubercolari plasmatici in LC/MS	05/2025
--------	-------------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

I campioni plasmatici degli Antitubercolari vengono deproteinizzati con un opportuno reagente contenente lo standard interno, centrifugate e direttamente iniettati in LC/MS.

Sensibilità del Metodo : 0,05 mg/l per **Etambutolo** e **Isoniazide**
0,005 mg/l per **Rifampicina**

Range dinamico del metodo : 1 - 100 mg/l

<u>Range terapeutico nel siero :</u>	Etambutolo	n. d.
	Isoniazide	n. d.
	Rifampicina	n. d.

CV%:	Etambutolo	6.8 intra serie	Etambutolo	7.1 inter serie
	Isoniazide	7.5 intra serie	Isoniazide	8.5 inter serie
	Rifampicina	8.5 intra serie	Rifampicina	6.0 inter serie

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

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

Reagente B – Soluzione Diluente, **1 x 100 ml**

Calibratore plasmatico – Livello 0, 1 x 1 ml

Codice LC79116 Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Calibratore plasmatico – Livello 1, 1 x 1 ml

Codice LC79116 Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Calibratore plasmatico – Livello 2, 1 x 1 ml

Codice LC79116 Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Calibratore plasmatico – Livello 3, 1 x 1 ml

Codice LC79116 Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Calibratore plasmatico – Livello 4, 1 x 1 ml

Codice LC79116 Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Calibratore plasmatico – Livello 5, 1 x 1 ml

Codice LC79116 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
Computer gestionale

Dotazione opzionale :

Autocampionatore

Modalità per il prelievo ematico :

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta senza gel o con EDTA come anticoagulante. Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il siero e stoccarlo a - 20 °C. Stabile 4 settimane.

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 :

In eppendorf dispensare in sequenza.

	Calibratore – Livello 0	Calibratore – Livello 1	Calibratore – Livello 2	Calibratore – Livello 3	Calibratore – Livello 4	Calibratore – Livello 5	Campione	Controlli
Calibratore – Livello 0	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 Deproteinizzante + Std Interno	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl	300 µl

Al vortex per 20 secondi

FASE 2: Centrifugare a 14.000 giri per 10 minuti.

N.B.: il campione è stabile 48 ore a 2-8 °C

FASE 3: Prelevare 100 µl del surnatante ed aggiungere 900 µl del **Reagente B – Soluzione diluente**

INIEZIONE :

- Iniettare 10 µl della soluzione nel sistema LC

ANTITUBERCOLARI PLASMATICI - Avvertenze

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA

Installare la colonna analitica nuova GOLD 50 x 2.1 mm, 3 μ m. Disconnettere il detector e far passare una soluzione di H₂O : Fase Mobile B (5 : 95 v/v) al flusso di 300 μ l / minuto per 15 minuti. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con una soluzione di H₂O : Fase Mobile A (5 : 95 v/v) al flusso di 300 μ l / 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 E STOCCAGGIO DELLA COLONNA

Disconnettere il detector. Flussare una soluzione di H₂O : Fase Mobile B (5 : 95 v/v) per 15 minuti scaricandola. La colonna va stoccata in una soluzione di H₂O : Fase Mobile B (5 : 95 v/v).

LAVAGGIO SIRINGA AUTOCAMPIONATORE

Lavare la siringa, prima di ogni seduta analitica, con Acetonitrile o Metanolo. Lavaggio dell'ago dell'autocampionatore intra - serie con Acetonitrile o Metanolo.

SETTAGGIO DEI FLUSSI

GRADIENTE			
Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (μ l/min)
0	95	5	300
0.50	95	5	300
2.00	5	95	300
3.59	5	95	300
4.00	95	5	300
5.00	95	5	300

ANALITA	PARENT ION
Etambutolo	205.0
Isoniazide	137.8
Rifampicina	823.6
Standard Interno	285.4

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
LC79116	Calibratore plasmatico per Antitubercolari	6 x 1 x 1 ml
LC79119	Controllo plasmatico per Antitubercolari – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 1 ml
Z51843550	Vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 PZ
Z51820717	Tappi per vial di vetro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 PZ
ZTF2500305213	Colonna analitica GOLD 50 x 2.1 mm, 3 um	1 Pz
SK79110	Starter kit per Antitubercolari	1 Pz

ANTITUBERCOLARI PLASMATICI

(Cromatogrammi/Spettri di Riferimento)

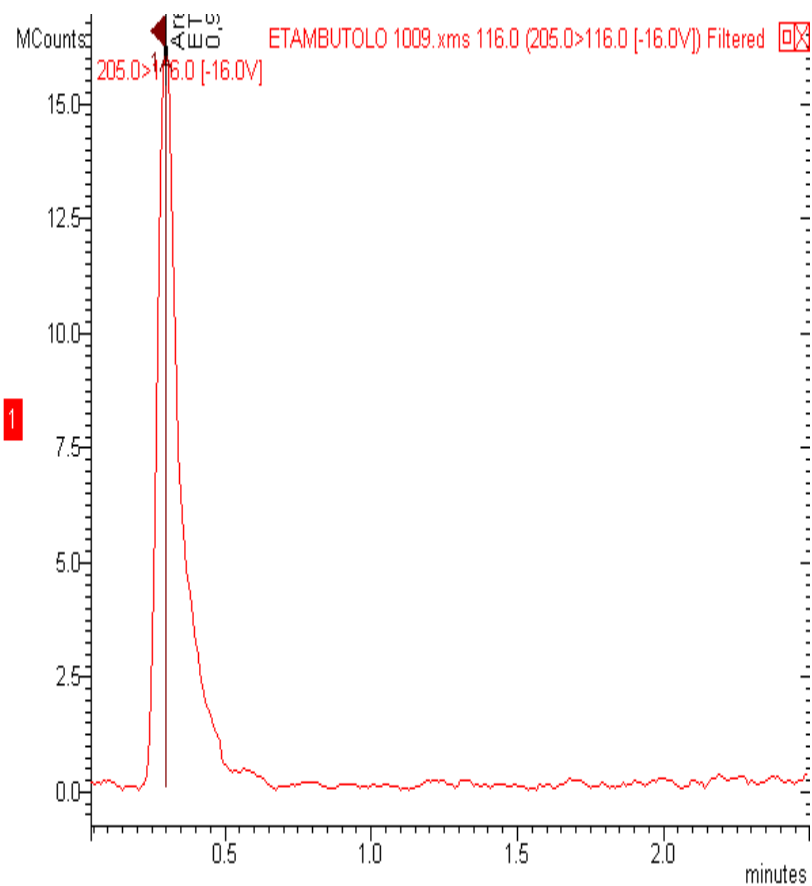


Fig. 1 :	Calibratore liofilo
R.T. 0.3	Etambutolo 10 mg/l

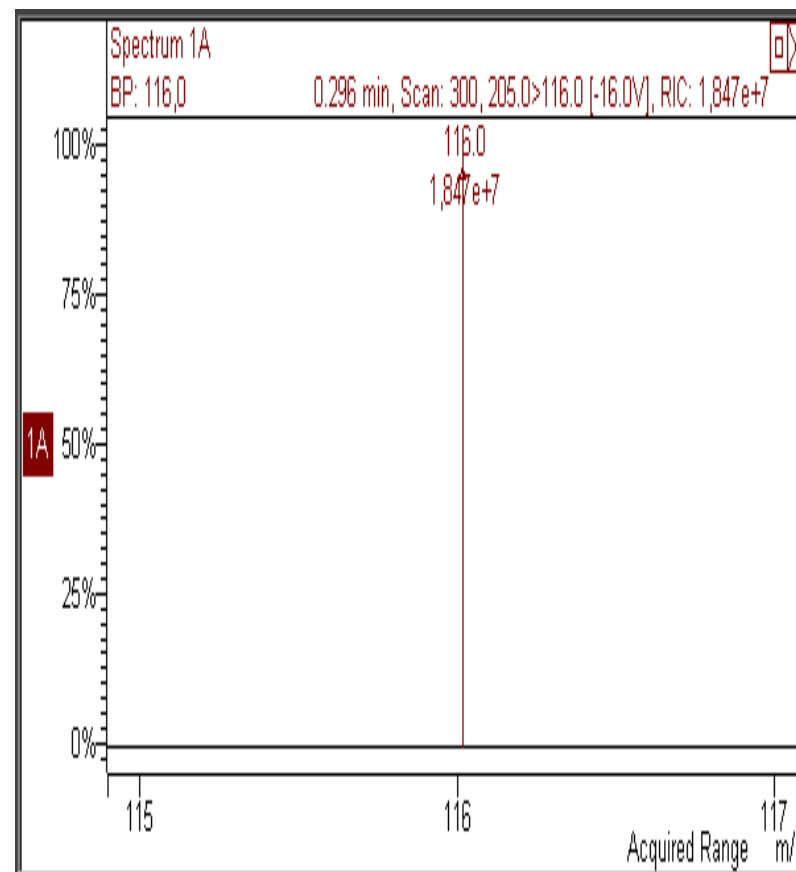


Fig. 2 :	Spettro di Massa dell'Etambutolo
TRANSIZIONI: 205.0>116.0	

ANTITUBERCOLARI PLASMATICI

(Cromatogrammi/Spettri di Riferimento)

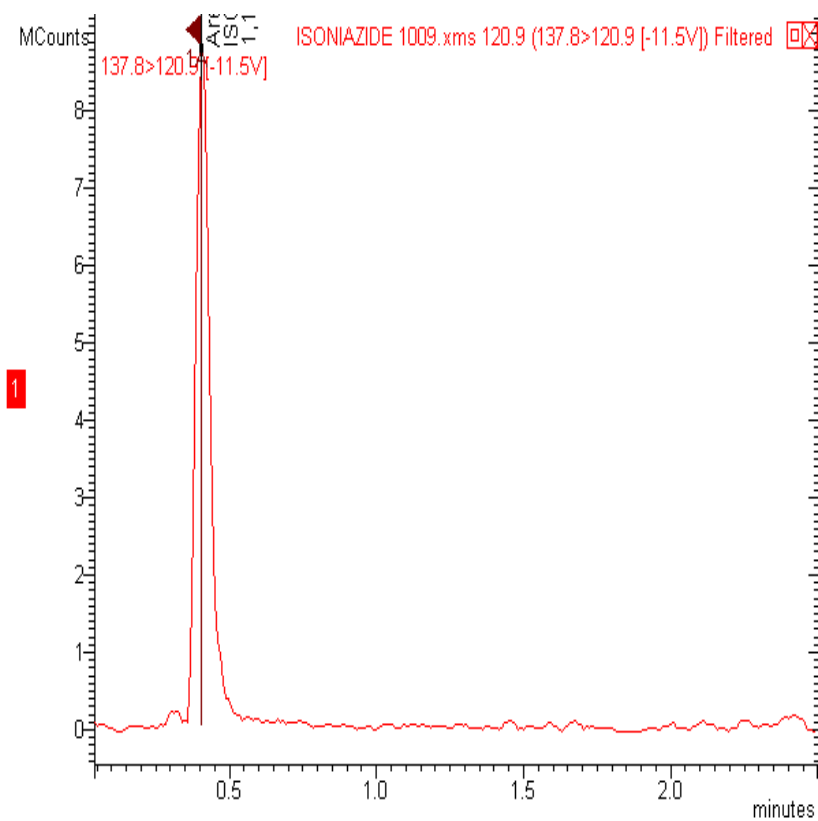


Fig. 3 :	Calibratore liofilo
R.T. 0.4	Isoniazide 10 mg/l

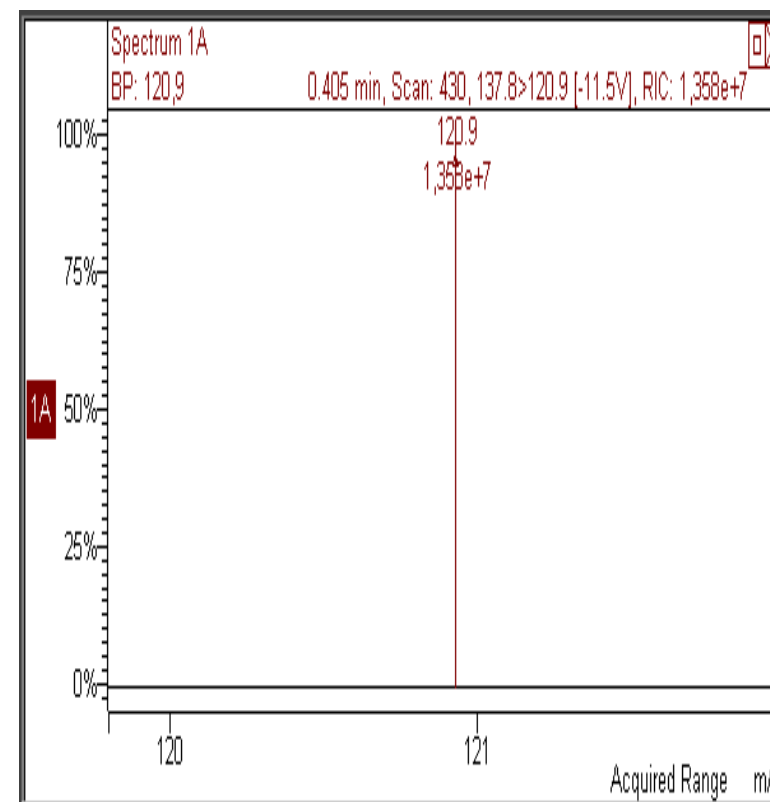


Fig. 4 :	Spettro di Massa della Isoniazide
TRANSIZIONI: 137.8>120.9	

ANTITUBERCOLARI PLASMATICI (Cromatogrammi/Spettri di Riferimento)

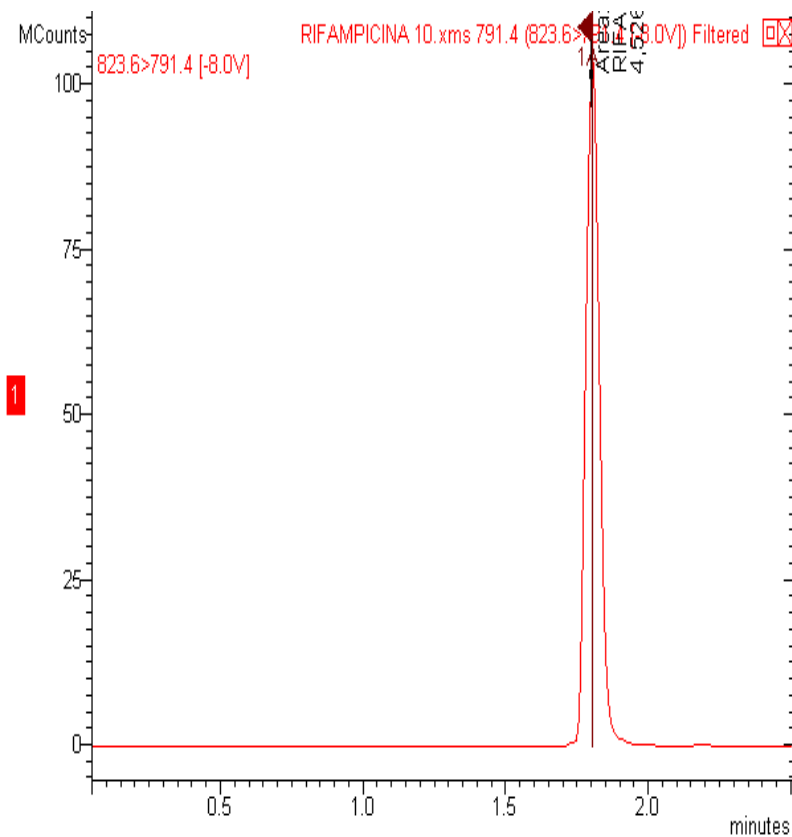


Fig. 5 :	Calibratore liofilo
R.T. 1.8	Rifampicina 10 mg/l

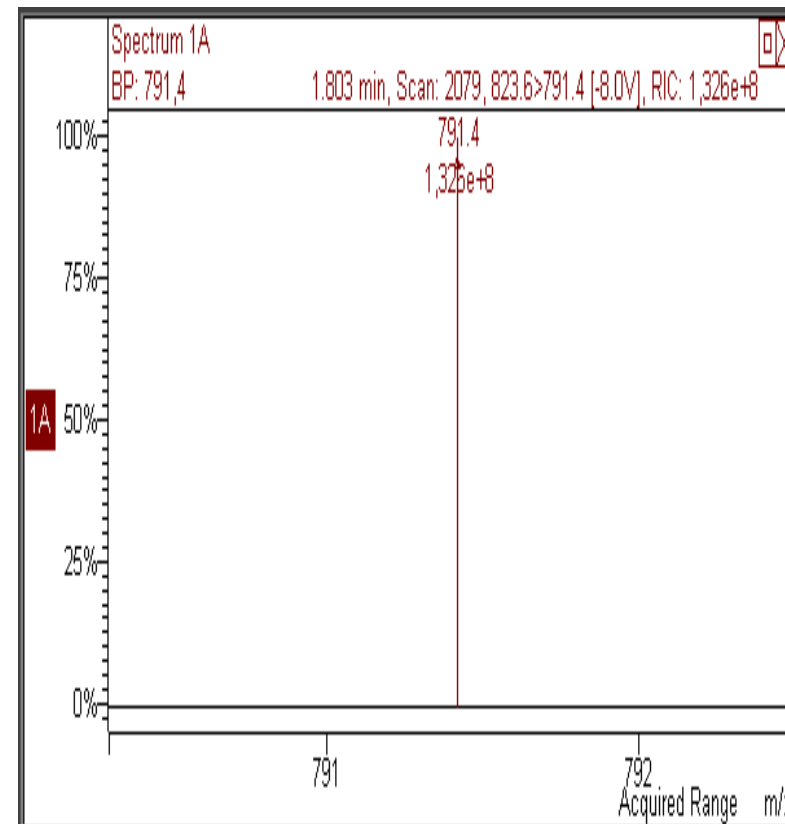


Fig. 6 :	Spettro di Massa della Rifampicina
TRANSIZIONI: 823.6>791.4	