

ANTIBIOTICI PLASMATICI IN UV - FAST

Cod. Z91010





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	Antibiotici plasmatici in UV - FAST	09/2025
---------------	--	----------------

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.

La **daptomicina** è un nuovo antibiotico lipopeptidico utilizzato nella cura di certe infezioni causate da organismi Gram-positivi. È un composto esistente in natura, che si trova nel saprofago del suolo *Streptomyces roseosporus*. Il suo diverso meccanismo di azione lo potrebbe rendere utile nella cura di infezioni causate da batteri multi-resistenti. La daptomicina ha un meccanismo di azione differenziato, che si basa sull'interruzione di molti aspetti funzionali diversi della membrana cellulare batterica. Sembra che si leghi alla membrana e causi una rapida depolarizzazione, provocando la perdita del potenziale di membrana. Si inibisce così la sintesi di proteine, DNA e RNA, provocando la morte della cellula batterica.

Il **Linezolid** è un antibiotico per uso ospedaliero attivo su batteri Gram positivi aerobi e anaerobi, e in particolare anche su MRSA (ceppi di *Stafilococcus* meticillino-resistenti) e VRSA (ceppi di *Stafilococcus* vancomicina-resistenti).

La **Levofloxacin** è un principio attivo che appartiene alla classe dei fluorochinoloni di seconda generazione. La ciprofloxacina è il nome generico internazionale di un antibiotico sintetico del gruppo dei fluorochinoloni.

La **Ciprofloxacina** è battericida, il suo modo di agire dipende dal blocco della replicazione del DNA batterico, attraverso la sua legatura all'enzima DNA girasi (una topoisomerasi di tipo II), il quale consente lo srotolamento necessario per replicare una doppia elica di DNA. Il farmaco ha cento volte una più rilevante affinità per la DNA girasi batterica rispetto a quella dei mammiferi.

Il **Tazobactam** viene utilizzato in combinazione con la piperacillina o il ceftolozano, una nuova cefalosporina. Questo farmaco oltre a tutte le betalattamasi inibite dal sulbactam è in grado di annullare quelle cromosomicamente determinate da *Citrobacter*, *Enterobacter* e a volte anche da *Pseudomonas aeruginosa*. Ha una lieve attività antibatterica su *acinetobacter* e *neisserie*. Il tazobactam è sinergico con molte penicilline e cefalosporine; l'associazione più comune è quella con la piperacillina in un rapporto di 1:8 ciò conferisce un'attività nettamente maggiore rispetto alle solite ureidopenicilline uccidendo ad esempio anche l'*acinetobacter*. Risulta molto interessante la sua attività su *psudomonas*, *klebsielle* e *bacterioides* anche normalmente resistenti alla piperacillina.

Il **Ceftazidime** è un antibiotico in grado di uccidere i batteri responsabili di molte infezioni. Appartiene al gruppo delle cefalosporine. Può essere impiegato per curare alcune gravi infezioni, in particolari categorie di pazienti (ad esempio in pazienti in cui le difese immunitarie non sono efficienti o la terapia con un altro antibiotico sia fallita). Il farmaco si assume per via parenterale, ha un basso legame proteico ed è eliminato per via renale dove arriva in forma attiva nelle urine. L'antibiotico raggiunge rapidamente e ad alte concentrazioni tutti gli organi. Viene utilizzato contro le infezioni da *Bacteroides fragilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* sp, *Serratia marcescens*, *Neisseria meningitidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Il **Meropenem** è un antibiotico β -lattamico, appartenente alla classe dei carbapenemi a spettro d'azione molto ampio che comprende Gram+ e Gram-. È 2-4 volte più attivo dell'imipenem verso i GRAM- e presenta una maggiore resistenza alle β -lattamasi. È utile in caso di infezioni complicate della pelle causate da alcuni ceppi di *Staphylococcus aureus* o da *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, streptococchi viridans, *Enterococcus faecalis* non vancomicina resistente, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Bacteroides fragilis* e da alcune specie di *Peptostreptococcus*. Viene inoltre utilizzato in caso di appendicite complicata causata da streptococchi viridans, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron* e specie di *Peptostreptococcus*.

Infine è utile nel trattamento della meningite batterica causata da *Streptococcus pneumoniae*, da alcuni ceppi di *Haemophilus influenzae* e da *Neisseria meningitidis*.

La **Cefoxitina** è un antibiotico appartenente alla categoria delle cefamicine - molecole prodotte dal batterio *Streptomyces lactamdurans* - e rientra nel gruppo delle cefalosporine di seconda generazione.

In generale la Cefoxitina e le cefalosporine di seconda generazione si contraddistinguono per avere un ampio spettro d'azione, efficace sia sui batteri Gram-positivi che sui batteri Gram-negativi sensibili alle cefalosporine, e per avere proprietà farmacocinetiche vantaggiose. Dal punto di vista molecolare la Cefoxitina agisce inibendo la sintesi della parete batterica: come le altre cefalosporine, questo antibiotico ha la capacità di legarsi agli enzimi transpeptidasi che servono per creare i legami fra le catene di peptidoglicano (il polimero indispensabile per la costituzione della parete batterica); l'inibizione delle attività delle transpeptidasi compromette la stabilità della parete batterica, comportando la morte delle cellule batteriche in crescita. Il suo spettro di attività è piuttosto simile a quello del Cefamandolo. Risulta meno attiva delle cefalosporine di prima generazione così come del Cefamandolo verso i batteri Gram-positivi, ma in compenso è molto attiva verso i batteri anaerobi.

Il **Ceftriaxone** è un antibiotico appartenente al gruppo delle cefalosporine di terza generazione presenta una struttura ed un'attività antimicrobica in vitro simili a quelle della Cefotaxima e della Cefizoxima. Poiché il tempo di dimezzamento di questa cefalosporina è compreso tra le 6 e le 8 ore, è somministrabile per iniezione anche una o due volte al dì. Dal punto di vista molecolare inibisce la sintesi della parete batterica: come le altre cefalosporine, questo antibiotico ha la capacità di legarsi agli enzimi transpeptidasi che sono necessari al fine di creare i legami fra le catene di peptidoglicano, polimero indispensabile per la costituzione della parete batterica.

L'inibizione delle attività delle transpeptidasi pregiudica la stabilità della parete batterica, determinando la morte delle cellule batteriche in crescita.

Per alcune sue intrinseche caratteristiche (la presenza del gruppo metossiminico), possiede una naturale resistenza all'azione della beta-lattamasi batteriche, preservandone l'attività antibiotica anche per le specie penicillinasi-resistenti.

L'**Ampicillina** è un antibiotico del gruppo delle penicilline appartenente alla classe dei β -lattamici e il suo utilizzo risale al 1961. Fu sintetizzata per la prima volta da John Sheehan. La molecola è stabile in soluzione acida ed è in grado di inibire la sintesi del peptidoglicano: sostanzialmente l'ampicillina impedisce la formazione dei legami crociati tra le varie molecole di peptidoglicano (mureina), un componente fondamentale della parete cellulare batterica, e ne compromette la stabilità, rendendo così i batteri suscettibili allo shock osmotico. Sfortunatamente alcuni batteri produttori dell'enzima beta-lattamasi (penicillinasi) possono inattivare l'antibiotico rendendo così il trattamento inefficace. L'ampicillina è attiva su germi Gram-positivi e anche un discreto numero di Gram-negativi.

La **Piperacillina** (nella fase sperimentale conosciuta anche con la sigla T-1220) è un antibiotico appartenente alla classe dei β -lattamici, del gruppo delle penicilline. Più precisamente si tratta di una penicillina semisintetica, una ureido-penicillina, dotata di attività battericida. Viene normalmente utilizzata in associazione con un inibitore delle beta-lattamasi, in particolare nella combinazione piperacillina/tazobactam. La molecola presenta uno spettro antibatterico ampio, essendo attiva sia verso molti batteri Gram-positivi (ad esempio *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*), Gram-negativi (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Enterobacteriaceae*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) e diversi anaerobi (tra cui *Bacteroides fragilis*). L'antibiotico blocca la reazione di transpeptidazione fondamentale per una corretta sintesi del peptidoglicano della parete cellulare batterica e conseguentemente rende il germe particolarmente sensibile alle variazioni osmotiche determinandone di fatto la lisi per shock osmotico.

Gli antibiotici possono colpire la flora batterica intestinale e dare, di conseguenze, alterazioni dell'alvo, compensabili con l'assunzione di fermenti lattici. Gli antibiotici possono provocare effetti indesiderati, come reazioni allergiche, dovute alla sensibilità dell'individuo verso uno o più componenti, oppure tossicità ad alto livello di vari distretti dell'organismo o, ancora, intolleranza provocata dall'interazione con altri farmaci. La dipendenza da questi farmaci e l'abuso degli stessi possono portare alla morte.

È per questo motivo che riveste particolare importanza il dosaggio di questi ultimi anche a basse concentrazioni.

CARATTERISTICHE DEL KIT

RECUPERO DEL METODO:	GRUPPO 1 Ceftriaxone Ampillicina Ciprofloxacina Levofloxacina Linezolid Piperacillina GRUPPO 2 Tazobactam Ceftazidime Meropenem Cefoxitina Daptomicina	67,2% 98,3% 103,5% 91,5% 90,9% 110,7% 111,3% 91,0% 115,4% 98,4% 91,0%
SENSIBILITÀ DEL METODO (LLOD):	GRUPPO 1 Ceftriaxone Ampillicina Ciprofloxacina Levofloxacina Linezolid Piperacillina GRUPPO 2 Tazobactam Ceftazidime Meropenem Cefoxitina Daptomicina	1 mg/l 0,1 mg/l 0,03 mg/l 0,1 mg/l 0,03 mg/l 0,03 mg/l 0,5 mg/l 0,5 mg/l 0,5 mg/l 0,5 mg/l 0,5 mg/l
MINIMA CONCENTRAZIONE ANALIZZABILE (LLOQ):	GRUPPO 1 Ceftriaxone Ampillicina Ciprofloxacina Levofloxacina Linezolid Piperacillina GRUPPO 2 Tazobactam Ceftazidime Meropenem Cefoxitina Daptomicina	10 mg/l 0,5 mg/l 0,1 mg/l 0,5 mg/l 0,1 mg/l 0,1 mg/l 2,0 mg/l 2,0 mg/l 2,0 mg/l 2,0 mg/l 2,0 mg/l
LINEARITÀ DEL METODO:	GRUPPO 1 Ceftriaxone Ampillicina Ciprofloxacina Levofloxacina Linezolid Piperacillina	10 - 500 mg/l 0,5 - 500 mg/l 0,1 - 500 mg/l 0,5 - 500 mg/l 0,1 - 500 mg/l 0,1 - 500 mg/l

	GRUPPO 2 Tazobactam Ceftazidime Meropenem Cefoxitina Daptomicina		2,0 - 500 mg/l 2,0 - 500 mg/l 2,0 - 500 mg/l 2,0 - 500 mg/l 2,0 - 500 mg/l									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Ceftriaxone :</u>	<table><tr><td>Ci</td><td>Cs</td></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>11,67%</td><td>0,87%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	11,67%	0,87%					
Ci	Cs											
2,5 mg/l	25 mg/l											
11,67%	0,87%											
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Ceftriaxone :</u>	<table><tr><td>Ci</td><td>Cs</td></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>13,46%</td><td>3,57%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	13,46%	3,57%					
Ci	Cs											
2,5mg/l	25 mg/l											
13,46%	3,57%											
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Ceftriaxone :</u>	<table><tr><td>C LLOQ</td><td>Cm</td><td>CUP</td></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>11,71%</td><td>4,11%</td><td>7,06%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	11,71%	4,11%	7,06%		
C LLOQ	Cm	CUP										
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l										
11,71%	4,11%	7,06%										
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Ceftriaxone:</u>	<table><tr><td>C LLOQ</td><td>Cm</td><td>CUP</td></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>11,83%</td><td>7,39%</td><td>8,97%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	11,83%	7,39%	8,97%		
C LLOQ	Cm	CUP										
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l										
11,83%	7,39%	8,97%										
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9981 ± 0,0012 Ceftriaxone											
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Ampicillina :</u>	<table><tr><td>Ci</td><td>Cs</td></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>7,22%</td><td>2,34%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	7,22%	2,34%					
Ci	Cs											
2,5 mg/l	25 mg/l											
7,22%	2,34%											
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Ampicillina :</u>	<table><tr><td>Ci</td><td>Cs</td></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>8,25%</td><td>3,11%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	8,25%	3,11%					
Ci	Cs											
2,5mg/l	25 mg/l											
8,25%	3,11%											
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Ampicillina :</u>	<table><tr><td>C LLOQ</td><td>Cm</td><td>CUP</td></tr><tr><td>0,5 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>2,48%</td><td>1,77%</td><td>3,50%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	2,48%	1,77%	3,50%		
C LLOQ	Cm	CUP										
0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l										
2,48%	1,77%	3,50%										
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> <u>Ampicillina:</u>	<table><tr><td>C LLOQ</td><td>Cm</td><td>CUP</td></tr><tr><td>0,5 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>10,86%</td><td>6,83%</td><td>10,38%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	10,86%	6,83%	10,38%		
C LLOQ	Cm	CUP										
0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l										
10,86%	6,83%	10,38%										
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9970 ± 0,0006 Ampicillina											
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> <u>Ciprofloxacina :</u>	<table><tr><td>Ci</td><td>Cs</td></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>4,72%</td><td>3,08%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	4,72%	3,08%					
Ci	Cs											
2,5 mg/l	25 mg/l											
4,72%	3,08%											
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> <u>Ciprofloxacina :</u>	<table><tr><td>Ci</td><td>Cs</td></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>3,62%</td><td>4,24%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	3,62%	4,24%					
Ci	Cs											
2,5mg/l	25 mg/l											
3,62%	4,24%											

<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Ciprofloxacina :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>5,40%</td><td>2,59%</td><td>3,21%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	5,40%	2,59%	3,21%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
5,40%	2,59%	3,21%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Ciprofloxacina:	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>6,59%</td><td>6,66%</td><td>6,73%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	6,59%	6,66%	6,73%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
6,59%	6,66%	6,73%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9983 ± 0,0012 Ciprofloxacina									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Levofloxacina :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>4,44%</td><td>2,24%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	4,44%	2,24%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
4,44%	2,24%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Levofloxacina :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>5,21%</td><td>2,69%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	5,21%	2,69%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
5,21%	2,69%									
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Levofloxacina :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,5 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>5,38%</td><td>0,96%</td><td>2,78%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	5,38%	0,96%	2,78%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
5,38%	0,96%	2,78%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Levofloxacina:	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,5 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>13,0%</td><td>6,69%</td><td>8,83%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	13,0%	6,69%	8,83%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,5 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
13,0%	6,69%	8,83%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9991 ± 0,0007 Levofloxacina									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Linezolid :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>3,25%</td><td>1,92%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	3,25%	1,92%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
3,25%	1,92%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Linezolid :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>7,35%</td><td>1,38%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	7,35%	1,38%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
7,35%	1,38%									
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Linezolid :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>1,95%</td><td>2,56%</td><td>1,47%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	1,95%	2,56%	1,47%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
1,95%	2,56%	1,47%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Linezolid:	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>7,12%</td><td>10,76%</td><td>6,89%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	7,12%	10,76%	6,89%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
7,12%	10,76%	6,89%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9994 ± 0,0004 Linezolid									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Piperacillina :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>4,71%</td><td>2,75%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	4,71%	2,75%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
4,71%	2,75%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Piperacillina :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>5,47%</td><td>3,24%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	5,47%	3,24%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
5,47%	3,24%									

<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Piperacillina :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>7,68%</td><td>4,10%</td><td>5,24%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	7,68%	4,10%	5,24%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
7,68%	4,10%	5,24%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Piperacillina :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>0,1 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>9,91%</td><td>9,27%</td><td>4,88%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	9,91%	9,27%	4,88%
C LLOQ	Cm	CUP								
0,1 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
9,91%	9,27%	4,88%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9978 ± 0,0014 Piperacillina									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Tazobactam :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>6,56%</td><td>6,60%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	6,56%	6,60%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
6,56%	6,60%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Tazobactam :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>12,22%</td><td>7,36%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	12,22%	7,36%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
12,22%	7,36%									
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Tazobactam :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>4,85%</td><td>3,35%</td><td>5,06%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	4,85%	3,35%	5,06%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
4,85%	3,35%	5,06%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Tazobactam :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>8,98%</td><td>5,98%</td><td>5,74%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	8,98%	5,98%	5,74%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
8,98%	5,98%	5,74%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9922 ± 0,0027 Tazobactam									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Ceftazidime :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>1,66%</td><td>4,27%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	1,66%	4,27%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
1,66%	4,27%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Ceftazidime :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>4,61%</td><td>5,32%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	4,61%	5,32%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
4,61%	5,32%									
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Ceftazidime :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>7,30%</td><td>4,04%</td><td>2,80%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	7,30%	4,04%	2,80%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
7,30%	4,04%	2,80%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Ceftazidime :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>8,32%</td><td>4,70%</td><td>5,70%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	8,32%	4,70%	5,70%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
8,32%	4,70%	5,70%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9976 ± 0,0004 Ceftazidime									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Meropenem :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>7,54%</td><td>3,83%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	7,54%	3,83%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
7,54%	3,83%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Meropenem :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>8,27%</td><td>6,18%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	8,27%	6,18%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
8,27%	6,18%									

<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Meropenem :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>5,53%</td><td>4,12%</td><td>3,61%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	5,53%	4,12%	3,61%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
5,53%	4,12%	3,61%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Meropenem :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>11,10%</td><td>13,74%</td><td>6,55%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	11,10%	13,74%	6,55%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
11,10%	13,74%	6,55%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9946 ± 0,0032 Meropenem									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Cefoxitina:	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>6,03%</td><td>3,71%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	6,03%	3,71%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
6,03%	3,71%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Cefoxitina:	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>6,73%</td><td>2,95%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	6,73%	2,95%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
6,73%	2,95%									
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Cefoxitina:	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>3,81%</td><td>1,67%</td><td>2,91%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	3,81%	1,67%	2,91%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
3,81%	1,67%	2,91%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Cefoxitina:	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>8,16%</td><td>2,90%</td><td>5,10%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	8,16%	2,90%	5,10%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
8,16%	2,90%	5,10%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9976 ± 0,0031 Cefoxitina									
<u>Accuratezza intra serie (errore relativo %)</u> Daptomicina :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5 mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>3,74%</td><td>8,24%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5 mg/l	25 mg/l	3,74%	8,24%			
Ci	Cs									
2,5 mg/l	25 mg/l									
3,74%	8,24%									
<u>Accuratezza inter serie (errore relativo %)</u> Daptomicina :	<table><tr><th>Ci</th><th>Cs</th></tr><tr><td>2,5mg/l</td><td>25 mg/l</td></tr><tr><td>5,12%</td><td>9,55%</td></tr></table>	Ci	Cs	2,5mg/l	25 mg/l	5,12%	9,55%			
Ci	Cs									
2,5mg/l	25 mg/l									
5,12%	9,55%									
<u>Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %)</u> Daptomicina :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>3,04%</td><td>5,11%</td><td>6,78%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	3,04%	5,11%	6,78%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
3,04%	5,11%	6,78%								
<u>Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %)</u> Daptomicina :	<table><tr><th>C LLOQ</th><th>Cm</th><th>CUP</th></tr><tr><td>2 mg/l</td><td>10 mg/l</td><td>50 mg/l</td></tr><tr><td>6,93%</td><td>7,16%</td><td>7,87%</td></tr></table>	C LLOQ	Cm	CUP	2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l	6,93%	7,16%	7,87%
C LLOQ	Cm	CUP								
2 mg/l	10 mg/l	50 mg/l								
6,93%	7,16%	7,87%								
<u>Coefficiente di Correlazione R2 + Dev Std:</u>	0,9920 ± 0,0024 Daptomicina									

CONTENUTO DELLA CONFEZIONE (100 TEST)

Reagente A – Soluzione Diluente	1 x 15 ml	
Reagente B – Soluzione Stabilizzante	1 x 10 ml	
Reagente C1 – Soluzione Deproteinizzante 1 + Standard Interno	1 x 30ml	<u>Stoccare a -20°C</u>
Reagente C2 – Soluzione Deproteinizzante 2 + Standard Interno	1 x 30 ml	<u>Stoccare a -20°C</u>
Reagente D – Soluzione Test Gruppo 1 (<i>Ceftriaxone, Ampicillina, Ciprofloxacina, Levofloxacina, Linezolid, Piperacillina</i>)	1 x 2 ml	
Reagente E – Soluzione Test Gruppo 2 (<i>Tazobactam, Ceftazidime, Meropenem, Cefoxitin, Daptomicina</i>)	1 x 2 ml	
Reagente F – Soluzione Standard Interno Gruppo 1	1 x 2 ml	<u>Stoccare a -20°C</u>
Reagente G – Soluzione Standard Interno Gruppo 2	1 x 2 ml	<u>Stoccare a -20°C</u>
Calibratore liofilo plasmatico (Gruppo 1 e Gruppo 2)	1 x 1 ml GRUPPO 1 1 x 1 ml GRUPPO 2	Codice Z91016 (Confezionato a parte - vedi scheda tecnica)
Reagente M1 – Fase Mobile M1	3 x 500 ml	
Reagente M2 – Fase Mobile M2	1 x 500 ml	

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a Temperatura Ambiente, eccetto i Reagenti C1-C2, F e G che vanno stoccati 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
Z91016	Calibratore liofilo plasmatico per Antibiotici	2 x 1 ml GRUPPO 1 2 x 1 ml GRUPPO 2
Z91019	Controllo liofilo plasmatico per Antibiotici – Livelli 1 e 2	2 x 3 x 1 ml GRUPPO 1 2 x 3 x 1 ml GRUPPO 2
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120-EC-C 18 (50 x 4,6 mm –2,7 um)	1 PZ
S90199511	Prefiltri Javelin	1 x 10 PZ
S51843550	Vial di vetro chiaro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 PZ
S51820717	Tappi per Vial di vetro chiaro a volume ridotto da 1,5 ml a 15 ul	1 x 100 PZ

DOTAZIONE STRUMENTALE MINIMA RICHIESTA

Strumento HPLC isocratico con loop da 20 µl

Detector UV

λ per GRUPPO 1:	λ per GRUPPO 2:
Ceftriaxone 260 nm	Tazobactam 210 nm
Ampicillina 210 nm	Ceftazidime 260 nm
Ciprofloxacina 270 nm	Meropenem 295 nm
Levofloxacina 295 nm	Cefoxitina 245 nm
Linezolid 245 nm	Daptomicina 222 nm
Piperacillina 250 nm	
Standard interno 205 nm	

Registratore di cromatogrammi

DOTAZIONE OPZIONALE

Autocampionatore
Computer gestionale
DAD (Diode Array Detector).

MODALITÀ DI RACCOLTA DEL CAMPIONE EMATICO

Prelevare 3 ml di sangue venoso in una provetta con EDTA come anticoagulante. Centrifugare a 4000 rpm per 5 minuti. Separare il plasma in una provetta di vetro e diluire 1:1 con soluzione di MES a pH=6 con NaOH 5M quindi stoccarlo a -20°C. Stabile 1 mese.

PROCEDURA PREANALITICA

FASE 1

Preparazione di soluzione test del Gruppo 1

In una vial pipettare:

- 800 µl di Reagente A – Soluzione Diluente
- 100 µl di Reagente D – Soluzione Test Gruppo 1
- 100 µl di Reagente F – Soluzione Standard Interno Gruppo 1

INIEZIONE :

Iniettare 20 µl della soluzione nel cromatografo HPLC.

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.

Preparazione di soluzione test del Gruppo 2

In una vial pipettare:

- 800 µl di Reagente A – Soluzione Diluente
- 100 µl di Reagente E – Soluzione Test Gruppo 2
- 100 µl di Reagente G – Soluzione Standard Interno Gruppo 2

INIEZIONE :

Iniettare 20 µl della soluzione nel cromatografo HPLC.

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

In eppendorf dispensare:

- 100 µL di plasma/calibratore gruppo 1/calibratore gruppo 2/controlli
- 10 µL di **Reagente B** – Soluzione Stabilizzante
- 300 µL di **Reagente C1** – Soluzione Deproteinizzante 1 + Standard Interni (per Antibiotici del Gruppo 1) oppure Reagente C2 – Soluzione Deproteinizzante 2 + Standard Interni (per Antibiotici del Gruppo 2)

Vortex per 1 minuto

FASE 2

Centrifugare per 20 minuti a 14000rpm in microcentrifuga quindi prelevare la fase liquida e trasferirla quantitativamente in provetta in vetro per evaporatore rotante portare a secco la fase liquida sotto vuoto a temperatura di 55°C.

FASE 3

Aggiungere 100 µL di **Reagente A** – Soluzione Diluente

Vortex per 1 minuto

FASE 4

Prelevare la fase liquida ed introdurla negli insert (*nel caso si verificasse una opalescenza della soluzione lasciar decantare negli insert fino ad ottenimento di una fase limpida o, in alternativa, centrifugare gli stessi in microcentrifuga usando come supporto una eppendorf, quindi trasferire la fase liquida in altro insert*).

N.B.: il campione così preparato è stabile 24 ore a -20 °C

INIEZIONE :

Iniettare 20µL nel sistema HPLC

N.B.: i valori sono riferiti a siero diluito 1:1 con MES e nel qual caso l'analisi venisse svolta su plasma i valori devono essere raddoppiati.

ANTIBIOTICI PLASMATICI - Avvertenze

PROTEZIONE DELLA COLONNA

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 nuova 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 : Metanolo (20 : 80 v / v) a pH acidulo (> 3)** e successivamente 30 ml di **H₂O : Metanolo (80 : 20 v / v)**, al flusso di 1,5 ml/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Condizionare la colonna con la fase mobile al flusso di 1,5 ml/minuto e scaricare i primi 15 ml. Condizionare ulteriormente la colonna per 15 minuti anche a ricircolo di fase. 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 30 ml di H₂O : Metanolo o Acetonitrile (80 : 20 v / v) e scaricare. Flussare una soluzione di H₂O : Metanolo o Acetonitrile (30 : 70 v / v) per 30 minuti scaricandola. Quando la colonna verrà usata di nuovo, far passare 15 ml di H₂O : Metanolo (20 : 80 v / v) prima di condizionarla con la Fase Mobile. **Si raccomanda di eseguire il lavaggio della Colonna Analitica alla fine di ogni seduta analitica.**

PARAMETRI HPLC

LOOP	20 μ l
Flusso di lavoro consigliato	0,8 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 85 bar

SETTAGGIO DEI FLUSSI

GRADIENTE			
Tempo (min)	% M1 (POMPA A)	% M2 (POMPA B)	Flusso (µl/min)
0	100	0	800
10.0	67	33	800
10.5	50	50	800
15.0	50	50	800
15.5	100	0	800
20.0	100	0	800

ANTIBIOTICI PLASMATICI IN UV (Cromatogrammi di riferimento Gruppo I)

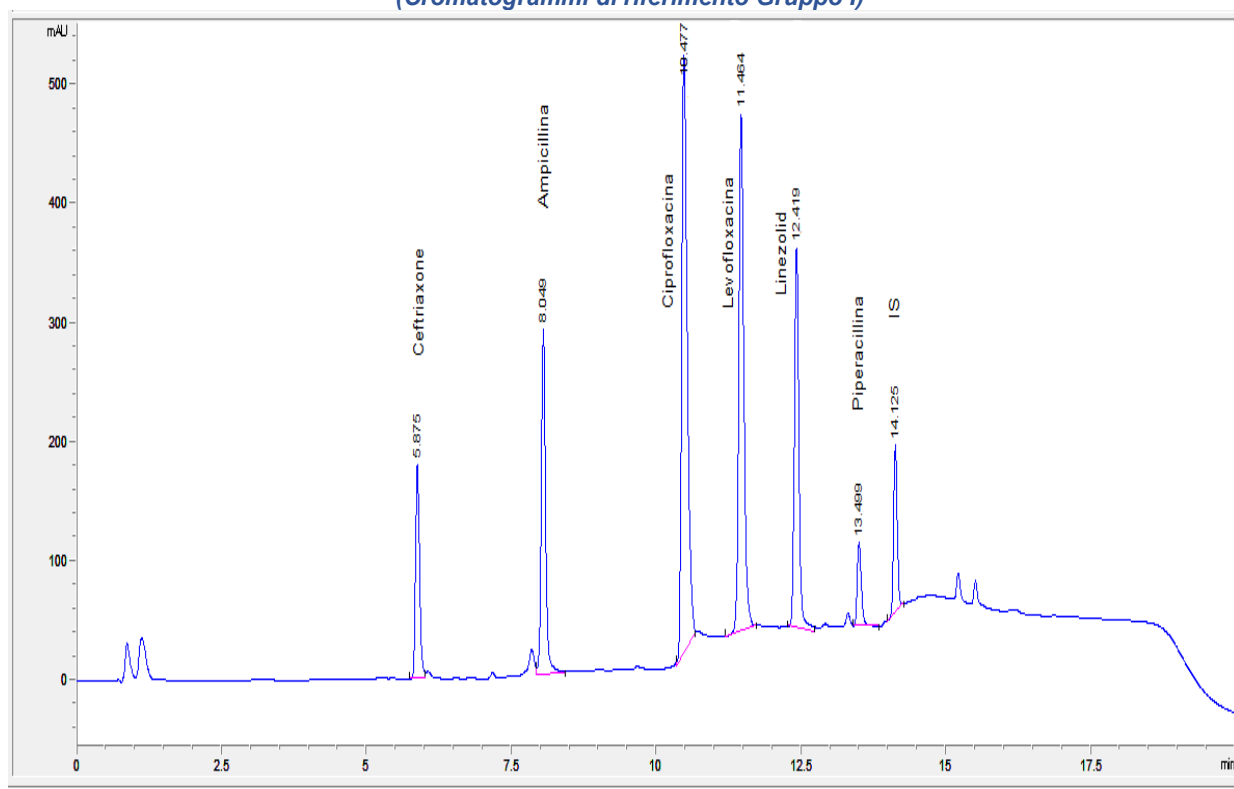


Fig. 1 :	Soluzione Test Gruppo 1		
	R.T. 5.87	Ceftriaxone	25 mg/l
	R.T. 8.04	Ampicillina	25 mg/l
	R.T. 10.47	Ciprofloxacin	25 mg/l
	R.T. 11.48	Levofloxacin	25 mg/l
	R.T. 12.41	Linezolid	25 mg/l
	R.T. 13.49	Piperacillina	25 mg/l
	R.T. 14.12	Standard Interno	

ANTIBIOTICI PLASMATICI IN UV

(Cromatogrammi di riferimento (Gruppo II))

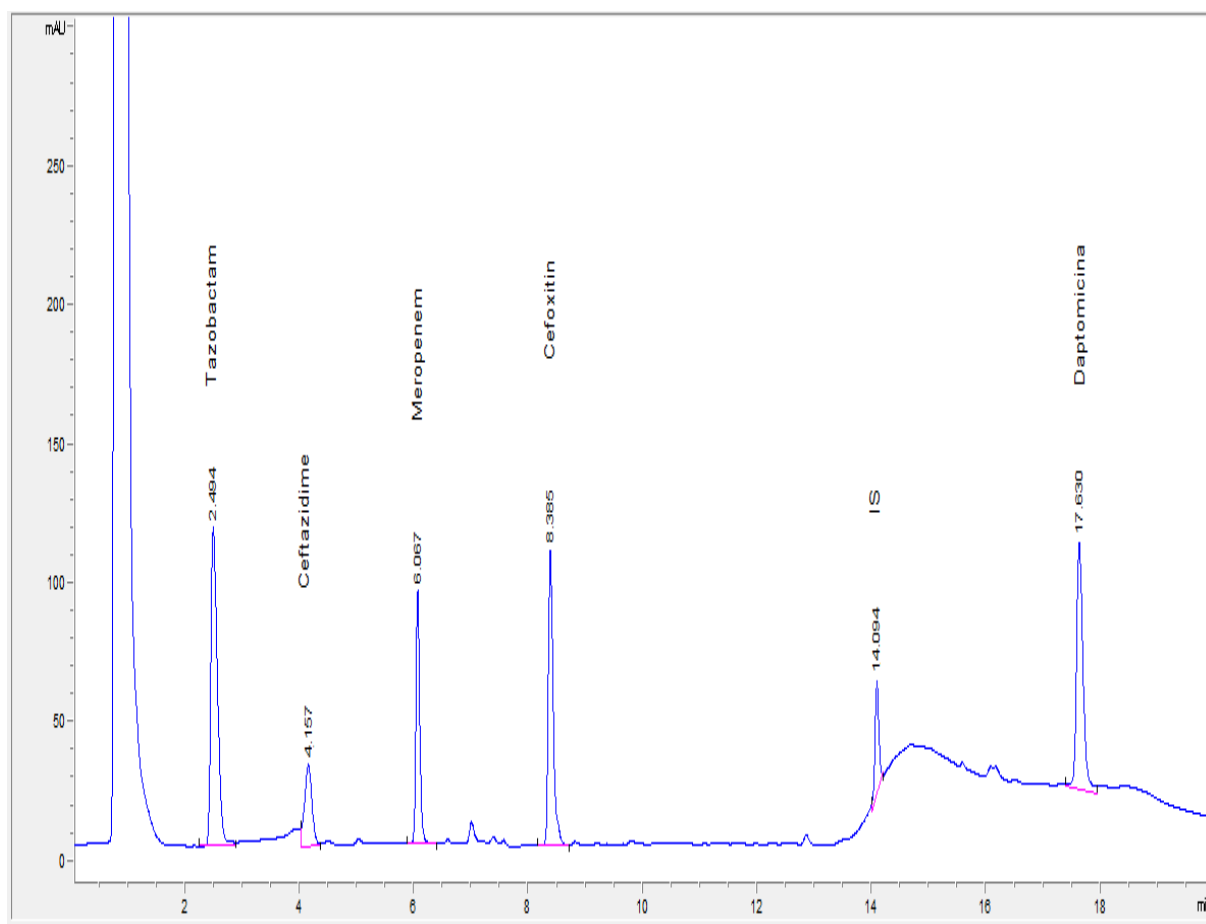


Fig. 2 : **Soluzione Test Gruppo 2**

R.T. 2.49	Tazobactam	25 mg/l
R.T. 4.15	Ceftazidime	25 mg/l
R.T. 6.06	Meropenem	25 mg/l
R.T. 8.38	Cefoxitina	25 mg/l
R.T. 14.09	Standard Interno	
R.T. 17.63	Daptomicina	25 mg/l



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