

ANTIARITMICI PLASMATICI in UV – FAST Codice Z78010

(Flecainide, Propafenone, Verapamile)

FLECAINIDE

Effetti farmacologici: è un farmaco antiaritmico di classe IC secondo la classificazione di Vaughan-Williams. Agisce rallentando la depolarizzazione della cellula miocardica (fase 0) prevalentemente sul sistema di conduzione di His-Purkinje (conduzione H-V) e, in modo minore, sulla conduzione nodale atrio-ventricolare e interatriale.

Biodisponibilità: dopo somministrazione orale, la Flecainide viene assorbita rapidamente ed in modo quasi completo dal tratto gastrointestinale; la biodisponibilità è pressoché completa (oltre il 90% della dose) e indipendente dal cibo.

Steady-state: i livelli ematici stabiliti si raggiungono dopo 3-5 giorni dall'inizio della terapia: non si è avuta dimostrazione di accumulo dopo trattamento prolungato.

Metabolismo: la Flecainide viene ampiamente metabolizzata a due metaboliti principali, che vengono poi coniugati e che non sono ritenuti farmacologicamente attivi.

Eliminazione: l'escrezione è essenzialmente urinaria, per circa il 30% della dose come Flecainide inalterata e per il resto come metaboliti: solo il 5% è eliminato con le feci. Nel caso delle urine con $\text{pH} \geq 8$, come, per esempio, nei casi con acidosi renale tubulare o nei pazienti a dieta strettamente vegetariana, l'eliminazione della Flecainide risulta molto rallentata.

Note: il monitoraggio dei livelli plasmatici è importante nei pazienti con grave compromissione epatica o renale, nei quali l'eliminazione può essere rallentata. Esso è inoltre raccomandato in pazienti con associata terapia con Amiodarone e può essere utile anche in pazienti con insufficienza cardiaca congestizia e compromissione renale anche se di modesta entità.

Le concentrazioni di Flecainide vanno misurate dopo 3 o 4 giorni.

PROPAFENONE

Effetti farmacologici: farmaco antiaritmico bloccante i canali del sodio (Classe IC). Il Propafenone agisce riducendo la velocità di ascesa della fase 0 del potenziale di azione. Il suo effetto prevalente è quindi costituito dalla depressione della velocità di conduzione a livello di tutte le strutture cardiache.

Il periodo refrattario, che non viene modificato dal farmaco alle normali frequenze cardiache, risulta invece prolungato (refrattarietà post-ripolarizzazione) in caso di frequenze di attivazione elevate (tachicardie, fibrillazione o flutter atriale).

Il livello di blocco dei canali del sodio è, caratteristicamente, frequenza-dipendente. Ciò spiega perché gli effetti del Propafenone, sia terapeutici che pro aritmici, siano più marcati ad alte frequenze di attivazione.

Interazioni farmacologiche: anticoagulanti dicumarolici (Warfarin) → potenzia azione (rischio emorragie); Digossina: incrementa la concentrazione plasmatica della Digossina.

Biodisponibilità: è dipendente dal tipo di formulazione (50 - 95 %) ma aumenta quando si raggiunge lo Steady-state.

Picco plasmatico: a seguito della somministrazione orale raggiunge il massimo della sua azione dopo 2-3 ore e l'effetto persiste per più di 8 ore. Poiché il Propafenone è soggetto a metabolismo epatico di primo passaggio ed ha una cinetica di tipo non lineare (esponenziale), con la formulazione a rilascio prolungato, la quota di farmaco disponibile a livello ematico risulta essere, a parità di dosaggio, inferiore. (La formulazione su questo prodotto ha molta importanza).

Metabolismo epatico, di tipo saturabile (citocromo P450) con formazione di metabolici farmacologicamente attivi (5OH-propafenone, N-depropionil-propafenone).

Eliminazione: il Propafenone è largamente metabolizzato nel fegato ed escreto quasi completamente come metaboliti nelle feci e nelle urine.

VERAPAMILE

Effetti farmacologici: Verapamil è un inibitore dei flussi transmembrana dello ione calcio, equiattivo sul muscolo liscio vasale e sulla fibrocellula miocardica nel ridurre il tono e la contrattilità; è inoltre dotato di proprietà antiaritmiche. Verapamil esercita la sua azione antiaritmica sulle fibre lente "fisiologiche" quali quelle del nodo atrioventricolare delle quali riduce la velocità di conduzione ed aumenta i periodi refrattari, e sulle fibre lente "patologiche", vale a dire su quelle normalmente rapide, sodio-dipendenti (miocardio di lavoro, sistema di His-Purkinje) che, in situazioni particolari (come l'ischemia), divengono appunto lente, calciodipendenti e possono dare origine ad aritmie ipercinetiche focali o da rientro.

Interazioni con altri farmaci: il trattamento cronico con Verapamil può aumentare i livelli di Digossina nel siero del 50-75% durante la prima settimana di terapia e può provocare una tossicità digitalica. La terapia con Verapamil può aumentare le concentrazioni di Carbamazepina durante la terapia di associazione.

Eliminazione: Verapamil ed i suoi metaboliti sono eliminati per via renale dopo un intenso metabolismo di primo passaggio epatico. Il 3 - 4% di farmaco è stato trovato immodificato nelle urine dopo 48 ore. Alcuni dei principali metaboliti conservano una significativa efficacia clinica sul tessuto muscolare liscio e/o miocardico.

 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	Antiaritmici plasmatici in UV	11/2024
--------	-------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL METODO

Principio del Metodo:

Il presente metodo consente di determinare le concentrazioni plasmatiche di **Flecainide**, **Propafenone**, **Verapamile** dopo purificazione SPE del plasma; dopo l'eluizione il campione viene diluito con opportuno reagente (soluzione stabilizzante) ed iniettato nel cromatografo HPLC.

Recupero del Metodo :

Flecainide	91,8 %
Propafenone	108,5 %
Verapamile	93,5 %

Sensibilità del Metodo (LLOD) :

Flecainide	0,01 µg/ml
Propafenone	0,01 µg/ml
Verapamile	0,006 µg/ml

Minima concentrazione analizzabile (LLOQ) :

Flecainide	0,03 µg/ml
Propafenone	0,03 µg/ml
Verapamile	0,02 µg/ml

Linearità :

Flecainide	0,03 - 5 µg/ml
Propafenone	0,03 - 5 µg/ml
Verapamile	0,02 - 2,5 µg/ml

Range di normalità :

Flecainide	0,4 - 0,8 µg/ml; tox> 2 µg/ml
Propafenone	0,3 - 2 µg/ml; tox> 2 µg/ml
Verapamile	0,05 - 0,25 µg/ml; tox> 1 µg/ml

Accuratezza intra serie (errore relativo %) FLECAINIDE :

Ci	Cs
0,1 µg/ml	1 µg/ml
13,8%	6,4%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) FLECAINIDE :

Ci	Cs
0,1 µg/ml	1 µg/ml
9,2%	3,9%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) FLECAINIDE :

C LLOQ	Cm	Ch
0,03 µg/ml	0,5 µg/ml	2 µg/ml
6,1%	4,0%	3,6%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) FLECAINIDE :

C LLOQ	Cm	Ch
0,03 µg/ml	20 µg/ml	40 µg/ml
13,1%	4,5%	3,4%

Coefficiente di correlazione R² + Dev Std

0,9997 ± 0,0002 Flecainide

Accuratezza intra serie (errore relativo %) PROPAFENONE :

Ci	Cs
0,1 µg/ml	1 µg/ml
8,8%	2,2%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) PROPAFENONE :

Ci	Cs
0,1 µg/ml	1 µg/ml
9,4%	2,2%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) PROPAFENONE :

C LLOQ	Cm	Ch
0,03 µg/ml	0,5 µg/ml	2 µg/ml
3,5%	3,5%	3,0%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) PROPAFENONE :

C LLOQ	Cm	Ch
0,03 µg/ml	0,5 µg/ml	2 µg/ml
8,3%	3,8%	2,6%

Coefficiente di correlazione R² + Dev Std

0,9998 ± 0,0001 Propafenone

Accuratezza intra serie (errore relativo %) VERAPAMILE :

Ci	Cs
0,05 µg/ml	0,5 µg/ml
5,2%	2,6%

Accuratezza inter serie (errore relativo %) VERAPAMILE :

Ci	Cs
0,05 µg/ml	0,5 µg/ml
7,6%	2,0%

Riproducibilità intra serie (coefficiente di variazione %) VERAPAMILE :

C LLOQ	Cm	Ch
0,02 µg/ml	0,25 µg/ml	1 µg/ml
6,2%	4,0%	3,9%

Riproducibilità inter serie (coefficiente di variazione %) VERAPAMILE :

C LLOQ	Cm	Ch
0,02 µg/ml	0,25 µg/ml	1 µg/ml
9,8%	3,2%	3,1%

Coefficiente di correlazione R² + Dev Std

0,9998 ± 0,0001 Verapamile

Contenuto della confezione :

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a T° ambiente.

Reagente A – Soluzione Diluente, 1 x 150 ml

Reagente B – Sol. Standard interno, 1 x 5 ml

Stoccare a 2 - 8 °C

Reagente C – Soluzione di Condizionamento 1, 1 x 100 ml

Reagente D – Soluzione di Condizionamento 2, 1 x 100 ml

Reagente E – Soluzione di Lavaggio, 1 x 100 ml

Reagente F – Soluzione Eluente, 1 x 30 ml

Reagente G – Soluzione Stabilizzante, 1 x 30 ml

Reagente H – Soluzione Test, 1 x 1 ml

Calibratore plasmatico liofilo, 2 x 2 ml

Codice Z78016

Confezionato a parte – vedi scheda tecnica

Colonne clean-up, 100 Pz

Reagente M – Fase Mobile, 2 x 500 ml

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento HPLC isocratico (flusso 1 ml/min)
loop da 20 μ l
Detector UV $\lambda = 207$ nm
Registratore di cromatogrammi

Dotazione opzionale :

Autocampionatore.
Computer gestionale

Modalità per il prelievo ematico :

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

PROCEDURA PREANALITICA

In una provetta di vetro pipettare:

- 850 µl di H₂O di grado HPLC
- 100 µl di **Reagente H - Soluzione Test**
- 50 µl di **Reagente B - Soluzione Standard Interno**

NOTA : Prima di iniziare la seduta analitica è consigliabile iniettare 20 µl di questa soluzione in HPLC per identificare il tempo di ritenzione dei singoli Antiaritmici 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 : Questa soluzione così ottenuta non deve essere usata come calibratore

PROCEDURA ANALITICA

FASE 1 : Preparare un numero di colonne Clean-up pari al numero dei campioni da analizzare più lo Standard di Calibrazione e gli eventuali Controlli.

- Condizionare le colonne Clean-up facendo passare 1000 µl di **Reagente C – Sol. di condizionamento 1**
non portare a secco
- Condizionare le colonne Clean-up facendo passare 1000 µl di **Reagente D – Sol. di condizionamento 2**
non portare a secco

FASE 2 : Dispensare in provette di plastica 0,5 ml di Campione/Calibratore/Controlli e aggiungere 1,5 ml di **Reagente A – Soluzione Diluente** + 50 µl di **Reagente B – Standard interno**

Agitare al vortex per 10 secondi

FASE 3 : Caricare 2,05 ml di Campione/Calibratore/Controlli come preparati nella FASE 2 nelle colonne Clean up

Non portare a secco!

FASE 4 : Lavare le colonne Clean-up con 1 ml di **Reagente E – Sol. di Lavaggio** (*portare a secco con un leggero flusso d'aria*)

FASE 5 : Eluire con 300 µl di **Reagente F – Sol. Eluente**

FASE 6 : Aggiungere all' eluato 300 µl di **Reagente G – Sol. Stabilizzante**

Agitare al vortex per 10 secondi

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

INIEZIONE :

- Iniettare 20 µl della Soluzione così ottenuta nel cromatografo HPLC e attendere la stampa del cromatogramma.

ANTIARITMICI - Avvertenze

REAGENTE H : SOLUZIONE TEST

ANTIARITMICI :	
Verapamile	10 µg/ml
Propafenone	10 µg/ml
Flecainide	10 µg/ml

PARAMETRI DEL DETECTOR SPETTROFOTOMETRICO

λ	207 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 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)** al flusso di 1,0 ml/minuto. **Non riciclare i liquidi di lavaggio.** Far passare 30 ml di una soluzione di **H₂O : 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 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.** 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 (80 : 20 v / v)** al flusso di 1,0 ml/minuto e scaricare. Flussare una soluzione di **H₂O : Acetonitrile (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	20 µl
Flusso di lavoro consigliato	1,0 ml/minuto
Pressione corrispondente	Circa 110 bar

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
Z78016	Calibratore liofilo plasmatico per Antiaritmici	4 x 2 ml
Z78019	Controllo liofilo plasmatico per Antiaritmici – Livelli 1 e 2	2 x 5 x 2 ml
Z699975902	Colonna Analitica Poroshell 120-EC-C 18 (50 x 4,6mm –2,7 um)	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

ANTIARITMICI PLASMATICI (Cromatogrammi di Riferimento)

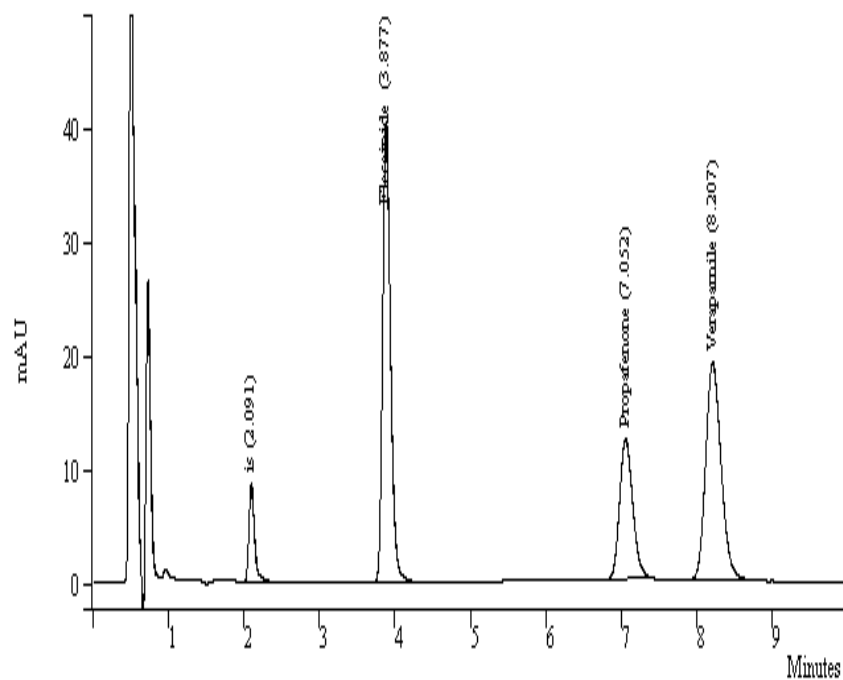


Fig. 1 : Soluzione Test		
R.T.	2.09	Standard interno
R.T.	3.87	Flecainide
R.T.	7.05	Propafenone
R.T.	8.20	Verapamil

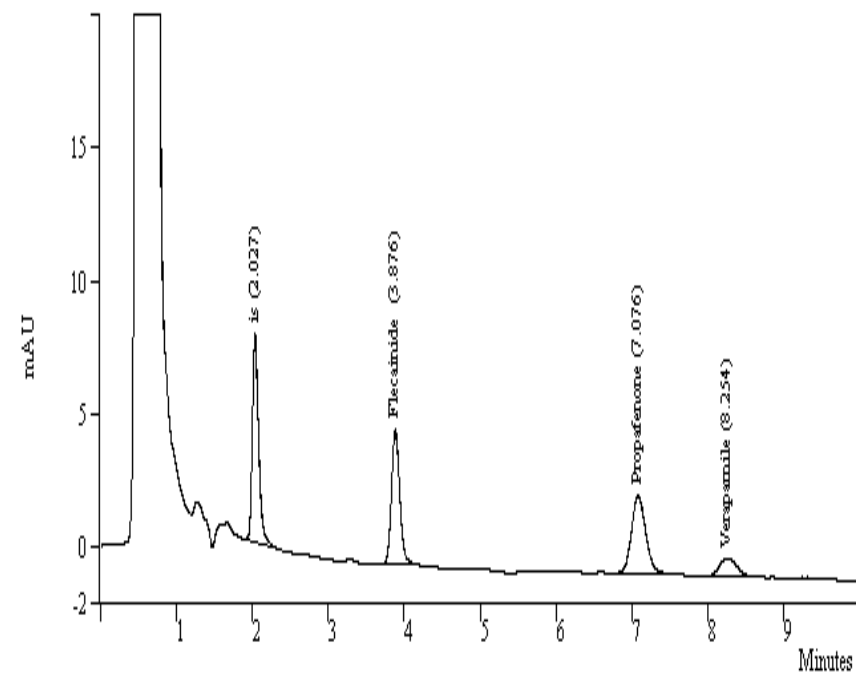


Fig. 2 : Calibratore plasmatico		
R.T.	2.02	Standard interno
R.T.	3.87	Flecainide 0,7 µg/ml
R.T.	7.07	Propafenone 1,5 µg/ml
R.T.	8.25	Verapamil 0,2 µg/ml

ANTIARITMICI PLASMATICI (Cromatogrammi di Riferimento)

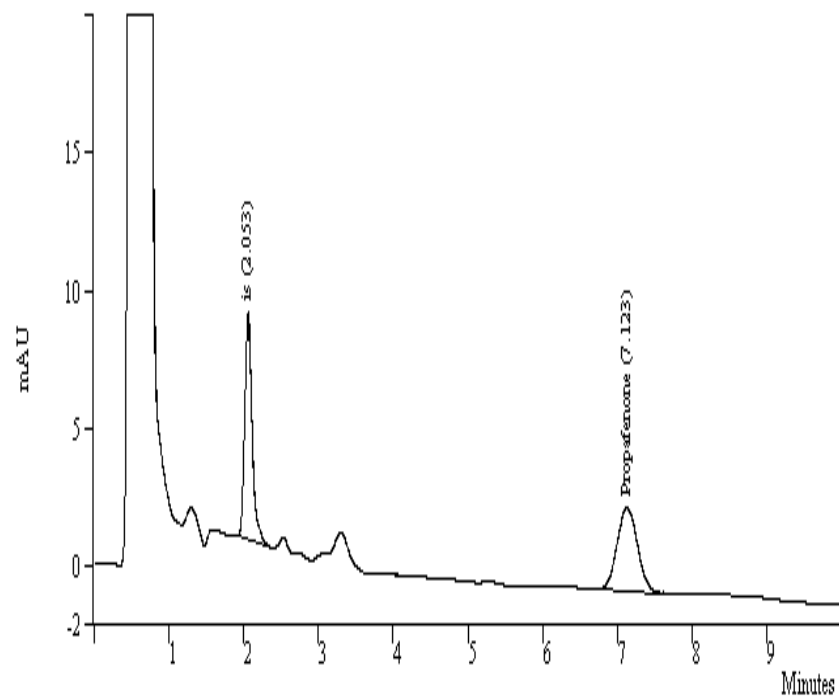


Fig. 3 : Campione di propafenone			
R.T.	2.05	Standard interno	
R.T.	7.12	Propafenone	3,0 µg/ml

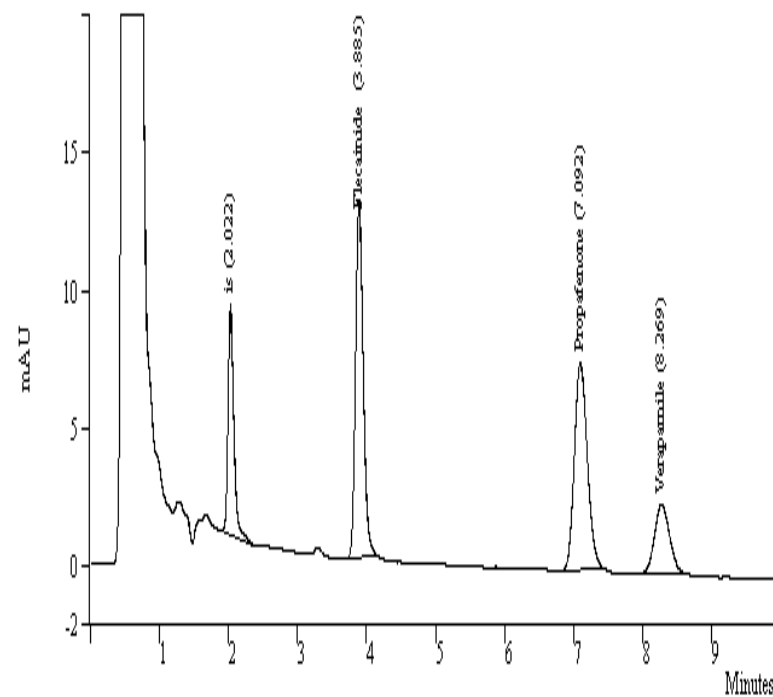


Fig. 4 : Controllo plasmatico alto			
R.T.	2.02	Standard interno	
R.T.	3.88	Flecainide	2,5 µg/ml
R.T.	7.09	Propafenone	3,0 µg/ml
R.T.	8.26	Verapamile	1,5 µg/ml

