

MassTox TDM Serie A Parameter Set Benzodiazepines 1 in serum/plasma
(MassTox TDM Série A Conjunto de Parâmetros – Benzodiazepínicos 1 em soro/plasma)

Reagente diagnóstico para determinação quantitativa *in vitro* de drogas benzodiazepínicas por LC-MS/MS.

Nº de lote, data de fabricação e validade: ver rótulos dos frascos e da embalagem.

| Artigo | Apresentação |
|--------|---|
| 92917 | TDM Série A Conjunto de Parâmetros – Drogas Benzodiazepínicas para Monitoramento de Drogas Benzodiazepínicas em soro/plasma |

Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções MassTox® TDM Series A PARAMETER Set – Benzodiazepines 1 – LC-MS/MS no site www.biosys.com.br.

SUMÁRIO

O conjunto de parâmetros da Chromsystems MassTox® TDM Series A Benzodiazepines 1 em soro/plasma é uma ferramenta de diagnóstico *in vitro* para ser usado em laboratórios clínicos para a detecção quantitativa de clordiazepóxido, clobazam, norclobazam, demoxepam, diazepam, nordiazepam, medazepam, modazolam, 1-OH-midazolam, oxazepam, prazepam, temazepam e tetrazepam em amostras de soro ou plasma de pacientes por cromatografia líquida com espectrometria de massas (LC-MS/MS). Ele é pretendido como um teste de monitoramento para pacientes tratados com um ou mais dos benzodiazepínicos listados acima e com o objetivo de assegurar os níveis de droga dentro da faixa terapêutica.

MÉTODO

Deteção por espectrometria de massa em *tandem*.

PRINCÍPIO

O kit de reagentes **MassTox® TDM Series A** permite a rápida determinação quantitativa de múltiplas drogas em soro ou plasma por LC-MS/MS. Para realizar a análise, você vai precisar do **MassTox® TDM BASIC kit A**, o conjunto específico para as substâncias **MassTox® TDM PARAMETER Set – Benzodiazepines 1** e a coluna **MassTox® MasterColumn Series A**.

O preparo de amostras é o mesmo para todos os parâmetros, baseado em um simples e eficiente processo de precipitação de proteínas. O uso de padrões internos com isótopos marcados (deuterados) estáveis garantem uma quantificação reproduzível e confiável dos analitos em menos de quatro minutos.

É fortemente recomendado verificar a acurácia das massas do sistema MS/MS antes de se iniciar a análise, para calibrar novamente o sistema se necessário e para ajustar os MRMs, utilizando-se o Tuning Mix.

REAGENTES

Componentes e Composições:

| Componente | Composição | Apresentação |
|---|--------------------------------|------------------------|
| 3PLUS1® Multilevel Plasma Calibrator Set Benzodiazepines 1 | Plasma humano | 4 x 1.0 ml (liof.) |
| MassCheck® Benzodiazepines 1 Plasma Control, Bi-level (I+II) | Plasma humano | 2 x 5 x 1.0 ml (liof.) |
| Internal Standard Mix MassTox® Benzodiazepines | Acetonitrila e sais das drogas | 1 x 3,8 ml |
| Tuning Mix MassTox® Benzodiazepines 1 | Acetonitrila e benzodiazepinas | 1 x 1 ml |

INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes não abertos são estáveis até a data de validade indicada no rótulo, desde que as condições de armazenamento estabelecidas sejam obedecidas. A tabela abaixo mostra a temperatura de armazenamento dos reagentes do kit.

| Produto | Condições de Armazenamento |
|---|----------------------------|
| Internal Standard Mix MassTox® Benzodiazepines | Abaixo de -18°C |
| 3PLUS1® Multilevel Plasma Calibrator Set Benzodiazepines 1 | Abaixo de -18°C |
| MassCheck® Benzodiazepines 1 Plasma Control, Bi-level (I+II) | Abaixo de -18°C |
| Tuning Mix MassTox® Benzodiazepines 1 | Abaixo de -18°C |

CUIDADOS E PRECAUÇÕES

Por favor, consulte a ficha de segurança dos reagentes e tome as precauções necessárias para o manuseio de reagentes de laboratório.

GARANTIA

Estas instruções de uso devem ser lidas atentamente antes da utilização do produto e as instruções nela contidas devem ser rigorosamente cumpridas. A confiabilidade dos resultados do ensaio não poderá ser garantida em caso de desvio às instruções.

DESCARTE

O Mix de Padrão Interno Reconstituído, o Tuning Mix e os restos das amostras preparadas contêm solventes orgânicos livres de halogênio, e devem ser descartados de acordo com as normas locais em vigor.

As soluções mencionadas não devem ser descartadas junto com o lixo doméstico. Não circule no abastecimento principal de água. Os contêineres de lixo devem ser armazenados apropriadamente e o acesso só deve ser permitido a pessoas autorizadas.

PREPARO DOS REAGENTES

Internal Standard (Padrão Interno): O Mix de Padrão Interno é adicionado a cada amostra em quantidades definidas e passa pelo processo de preparo de amostras inteiro.

Para o preparo de amostras, transfira 800 µL do Mix de Padrão Interno de Benzodiazepínicos (artigo 92346) para 12,0 mL de reagente de precipitação (artigo 92003).

Estabilidade: O Mix de Padrão Interno é estável abaixo de -18°C até a data de validade estipulada no rótulo.

No Reagente de Precipitação, o Mix de Padrão Interno pode ser mantido por até 2 semanas se armazenado em frascos de vidros bem fechados e protegidos da luz em um local refrigerado (+2 a +8°C). Para períodos maiores de armazenamento (até no máximo 3 meses), congele em temperaturas abaixo de -18°C. Evite exposição direta à luz solar!

3PLUS1® Multilevel Plasma Calibrator Set (Calibrador em plasma): Após a reconstituição, os calibradores são submetidos ao completo processo de preparo de amostra, de forma análoga aos espécimes de pacientes. Os padrões, assim preparados, são usados para calibrar o sistema LC-MS/MS. **Para reconstituir o calibrador liofilizado pipete exatamente 1.0 ml de água destilada no frasco de vidro.** Deixe os frascos em temperatura ambiente por aproximadamente 10-15 min, mexendo ocasionalmente e gentilmente até que o conteúdo dos frascos esteja homogêneo. As concentrações atuais dependem do lote e podem ser encontradas na bula de informações que acompanha os calibradores.

Estabilidade do calibrador reconstituído: Os Padrões de Calibração Multiníveis 3PLUS1® reconstituídos são estáveis por até 1 semana se armazenados em frascos de vidro bem fechados e protegidos da luz em refrigeração a +2 a +8°C. Para períodos maiores de armazenamento (até no máximo 3 meses), faça alíquotas e congele em temperaturas abaixo de -18°C. Após descongelar, homogeneíze bem.

MassCheck® Plasma Control (Controles em plasma): Os controles **MassCheck®** (artigos 0238 e 0239) são submetidos ao mesmo processo de preparo de amostras de pacientes. Os controles preparados são incluídos em cada série de analitos para verificar se a análise foi realizada corretamente. **Para reconstituir os controles liofilizados pipete exatamente 1.0 ml de água destilada em cada um dos frascos.** Deixe os frascos em temperatura ambiente por aproximadamente 10-15 min, mexendo ocasionalmente e gentilmente até que o conteúdo dos frascos esteja homogêneo. As concentrações atuais dependem do lote e podem ser encontradas na bula de informações que acompanha os controles.

Estabilidade dos Controles reconstituídos: Os Controles em Plasma **MassCheck®** reconstituídos são estáveis por até 1 semana se armazenados em frascos de vidro bem fechados e protegidos da luz em refrigeração a +2 a +8°C. Para períodos maiores de armazenamento (até no máximo 3 meses), congele em temperaturas abaixo de -18°C. Após descongelar, homogeneíze bem.

Tuning Mix: O tuning mix deve ser utilizado para verificar a acurácia do sistema MS/MS antes de iniciar uma corrida, e para ajustar os MRMs e calibrar novamente o sistema, se necessário.

MATERIAIS REQUERIDOS, MAS NÃO FORNECIDOS

- **MassTox®** TDM Series A – Basic Kit
- Espectrômetro de massas em tandem com software para avaliação
- Sistema de HPLC gradiente e com amostrador (preferencialmente com função de refrigeração)
- Pipetas e ponteiras para pipetas
- Centrífuga de bancada
- Vortex™

AMOSTRA

Para a análise são utilizados plasma ou soro. De acordo com o grupo de trabalho para neuropsicofarmacologia e farmacopsiquiatria, amostras de soro e plasma são estáveis por pelo menos 24 horas se armazenadas em um local escuro e refrigerado (4°C). Se armazenadas por mais de 24 horas, as amostras devem ser mantidas a aproximadamente -20°C. As amostras podem geralmente serem transportadas sem refrigeração [3].

Nota: É recomendado não utilizar tubos de coleta de sangue contendo separadores em gel para a coleta das amostras. Alguns tipos de gel podem absorver as drogas e diminuir suas concentrações nas amostras de soro. Interferência cromatográficas pelo gel também são possíveis.

PREPARO DAS AMOSTRAS

O preparo de amostras deve ser realizado de acordo com o procedimento descrito nas Instruções de Uso do produto **MassTox® TDM BASIC kit A.**

Estabilidade das amostras preparadas:

Após o preparo as amostras – protegidas da luz e bem fechadas – possuem as seguintes estabilidades:

- Em temperatura ambiente (aprox. 25°C) por até 3 dias
- Refrigeradas (+2 a +8°C) por até 7 dias

É recomendado o uso de amostrador automático refrigerado.

Para períodos maiores de armazenamento, armazene as amostras abaixo de -18°C. Nestas condições, as amostras são estáveis por no máximo 2 semanas. As amostras descongeladas devem ser bem homogeneizadas antes da injeção.

PROCEDIMENTOS DO TESTE

Otimização das massas

Utilizar o Tuning Mix para otimização das massas.

É fortemente recomendado verificar a acurácia do sistema MS/MS antes de iniciar e de calibrar novamente caso seja necessário. Para este kit, os MRMs dos analitos podem ser ajustados como a seguir:

1. Dilua o Tuning Mix (artigo 92020) com a Fase Móvel 2 (artigo 92002) de acordo com o instrumento utilizado (AB Sciex API 3200 aprox. 1:10) Introduza o mix via conexão-T e bomba de infusão em 50% de Fase Móvel 2 fluindo a 0.6 ml/min.
2. Inicie uma varredura contínua em Q1 (MS scan). Otimize todos os parâmetros de fonte de íon, especialmente voltagem, temperatura, potencial de declínio e taxas de fluxo de gás. Assegure que o spray esteja estável e bem formado.
3. Alterne para o modo MRM. Para cada substância, otimize a energia de colisão e potencial de saída celular.
4. Os analitos com baixa sensibilidade devem ser otimizados novamente.

Ajustes do instrumento:

A separação dos benzodiazepínicos 1 é feita em modo isocrático e a proporção de mistura das duas fases móveis deve ser ajustada devido aos diferentes volumes mortos dos sistemas de HPLC. Uma mistura de 25% de fase móvel 1 e 75% de fase móvel 2 deve ser usada inicialmente como base para otimização.

MRMs dos analitos e dos padrões internos

A seguinte tabela inclui todos os MRMs recomendados para os analitos e os padrões internos correspondentes. Todas as substâncias são medidas no modo de ionização positivo. Sempre que possível, dois MRMs adicionais são estabelecidos, e podem ser usados para qualificação. Estes não são validados.

| Analito | Padrão Interno* MRM 1 | MRM 1 | MRM 2 | MRM 3 |
|------------------|-----------------------|----------|----------|----------|
| Clordiazepóxido | ISTD 3 292->246 | 300->247 | 300->282 | 300->227 |
| Clobazam | ISTD 2 276->213 | 301->153 | 301->224 | 301->259 |
| Demoxepam | ISTD 3 292->246 | 287->180 | 287->207 | 287->242 |
| Diazepam | ISTD 3 292->246 | 285->154 | 285->193 | 285->222 |
| Medazepam | ISTD 2 276->213 | 271->180 | 271->207 | 271->242 |
| Midazolam | ISTD 1 306->260 | 326->291 | 326->249 | 326->223 |
| 1-OH-medazolam | ISTD 1 306->260 | 342->203 | 342->168 | 342->176 |
| Norclobazam | ISTD 3 292->246 | 287->210 | 287->245 | 287->216 |
| Nordiazepam | ISTD 2 276->213 | 271->208 | 271->140 | 271->91 |
| Oxazepam | ISTD 3 292->246 | 287->241 | 287->104 | 287->231 |
| Prazepam | ISTD 2 276->213 | 325->271 | 325->140 | 325->208 |
| Temazepam | ISTD 1 306->260 | 301->255 | 301->177 | 301->193 |
| Tretazepam | ISTD 3 292->246 | 289->197 | 289->225 | 289->253 |
| Padrão Interno 1 | - | 306->260 | 306->177 | 306->198 |
| Padrão Interno 2 | - | 276->213 | 276->140 | 276->96 |
| Padrão Interno 3 | - | 292->246 | 292->109 | 292->236 |

*Padrão Interno correspondente (MRM 1)

FAIXAS TERAPÊUTICAS

A seguinte tabela lista as faixas terapêuticas publicadas para cada droga neste kit [1, 2, 3]. Favor notar que sexo, idade, origem étnica e dosagem podem todos afetar a farmacocinética. Assim, nós recomendamos que esta lista seja usada somente como um guia. Cada laboratório deve estabelecer seus próprios valores de referência.

| Analito | Faixa terapêutica µg/L [1] | Faixa terapêutica µg/L [2] | Faixa terapêutica µg/L [3] |
|-----------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Clordiazepóxido | 400 - 2000 | 400 - 3000 | 400 - 3000 |
| Clobazam | 100 - 600 | 100 - 400 | 30 - 300 |
| Demoxepam | 500 - 740 | 500 - 740 | - |
| Diazepam | 125 - 2000 | 200 - 2000 | 200 - 2500 |
| Medazepam | 100 - 500 | 100 - 500 | - |
| Midazolam | 40 - 100 | 40 - 250 | 6 - 80 |
| 1-OH-midazolam | | | |
| Norclobazam | 2000 - 4000 | - | 300 - 3000 |
| Nordiazepam | 20 - 800 | 20 - 800 | 20 - 800 |
| Oxazepam | 200 - 1500 | 200 - 1500 | 200 - 1500 |
| Prazepam | 200 - 700 | 200 - 700 | - |
| Temazepam | 20 - 1000 | 20 - 900 | 20 - 900 |
| Tetrazepam | 50 - 600 | 50 - 1000 | - |

INTERFERENTES

Amostras de plasma foram fortificadas e analisadas com as seguintes substâncias; nenhuma interferência foi observada: 10-OH-carbamazepina, 9-OH-risperidona, alprazolam, amiodarona, amissulprida, amitriptilina, amprenavir, aripirazol, atazanavir, atomoxetina, bromazepam, carbamazepina, carbamazepina-10,11-epóxido, carbamazepina-diol, clorprotixeno, citalopram, clomipramina, clonazepam, clozapina, ciclosporina A, dasatinibe, desipramina, desalquilflurazepam, desmetilamiodarona, desmetilclozapina, desmetilfluoxetina, desmetil metsuximida, desmetilolanzapina, doxepina, duloxetina, efavirenz, eslicarbazepina, etossuximida, everolimus, felbamato, flunitrazepam, fluoxetina, flurazepam, fluvoxamina, gabapentina, haloperidol, hidróxi-itraconazol, imatinib, imipramina, indinavir, itraconazol, lacosamida, lamotrigina, levetiracetam, levomopromazina, lopinavir, lorazepam, lometazepam,

M8-nelfinavir, maprotilina, metilfenidato, mianserina, mirtazapina, N-desmetil metsuximida, N-desmetilsertralina, nelfinavir, nevirapina, nilotinibe, nitrazepam, norclomipramina, norclozapina, nordoxepina, norimatinibe, nortriptilina, O-desmetilvenlafaxina, olanzapina, oxcarbazepina, paroxetina, PEMA, perazina, fenobarbital, fenitoína, pipamperona, posaconazol, pregabalina, primidoona, prometazina, quetiapina, rapamicina, reboxetina, risperidona, ácido ritalínico, ritonavir, rufinamida, saquinavir, sertralina, estiripentol, sultiame, tacrolimus, teofilina, tiagabina, tipranavir, topiramato, trazodona, triazolam, trimipramina, ácido valpróico, venlafaxina, vigabatrina, voriconazol, ziprasidona, zonisamida.

LITERATURA

- Ludewig R, Regenthal R (Hrsg). Akute Vergiftungen und Arzneimittelüberdosierungen. 10. Aufl, WVG Stuttgart (2007).
- Schulz M, Schmoldt A. (2003) Therapeutic and Toxic Blood Concentrations of More than 800 Drugs and other xenobiotics. Pharmazie 58(7): 447-74.
- Hiemke C, Baumann P, Bergemann N, Conca A, Dietmaier O, Egberts K, Fric M, Gerlach M, Greiner C, Gründer G, Haen E, Havemann-Reinecke U, Jaquenoud Sirot E, Kirchherr H, Laux G, Lutz UC, Messer T, Müller MJ, Pfuhlmann B, Rambeck B, Riederer P, Schoppek B, Stingl J, Uhr M, Ulrich S, Waschgler R, Zernig G. (2011) AGNP Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry: Update 2011. Pharmacopsychiatry 44(6): 195-235.
- ROTE-LISTE®-Arzneimittelverzeichnis für Deutschland, Rote Liste® Service GmbH (2008).

Símbolos Usados



Fabricado por: Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH

Importado e Distribuído por: BioSys Ltda

Rua Coronel Gomes Machado, 358, Centro, Niterói, RJ

Cep: 24020-112

CNPJ: 02.220.795/0001-79

MS - nº 10350840351

SAC: sac@biosys.com.br - (21) 3907-2534 / 0800 015 1414

www.biosys.com.br