

**FAMILIA MASSTOX TDM SERIE A PARAMETER SET – ANTIMYCOTIC DRUGS IN SERUM/PLASMA**  
(MassTox TDM Série A Conjunto de Parâmetros – Drogas Antimicóticas em soro/plasma por LC-MS/MS)

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

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

| Artigo | Apresentação   |
|--------|--|
| 92922  | TDM Série A Conjunto de Parâmetros – Drogas Antimicóticas, para Monitoramento de Drogas Antimicóticas em soro/plasma |

**Para informações detalhadas sobre o método e procedimento, favor consultar o Manual de Instruções MassTox® TDM Series A PARAMETER Set – Antimycotic Drugs – LC-MS/MS no site [www.biosys.com.br](http://www.biosys.com.br).**

### SUMÁRIO

O conjunto de parâmetros da Chromsystems MassTox® TDM Series A Drogas antimicóticas em Soro/Plasma é uma ferramenta de diagnóstico *in vitro* para ser utilizada em laboratórios clínicos para detecção quantitativa de fluconazol, 5-flucitosina, hidróxi-itraconazol, itraconazol, cetoconazol, posaconazol e voriconazol em amostras de soro ou plasma de pacientes através de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). Este kit é indicado como um teste de monitoramento para pacientes tratados com uma ou várias drogas antimicóticas listadas acima e com o objetivo de assegurar os níveis da 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 – Antimycotic Drugs** 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             | Plasma humano e sais associados | 4 x 1.0 ml (liof.) |
| MassCheck® Antimycotic Drugs Plasma Control Level I  | Plasma humano e sais associados | 5 x 1.0 ml (liof.) |
| MassCheck® Antimycotic Drugs Plasma Control Level II | Plasma humano e sais associados | 5 x 1.0 ml (liof.) |

|   |                                |            |
|---|--------------------------------|------------|
| Internal Standard MassTox Antimycotic Drugs | Acetonitrila e sais associados | 1 x 3.8 ml |
| Tuning Mix                                  | Metanol e sais associados      | 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 armazenagem dos reagentes do kit.

| Produto                                     | Condições de Armazenamento |
|---|----------------------------|
| Internal Standard MassTox Antimycotic Drugs | Abaixo de -18°C            |
| 3PLUS1® Multilevel Plasma Calibrator Set    | Abaixo de -18°C            |
| MassCheck® Antimycotic Drugs Plasma Control | Abaixo de -18°C            |
| Tuning Mix                                  | 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, o Tuning Mix e resíduos de amostras preparadas contém solventes orgânicos. Descarte os resíduos dos produtos em um recipiente para solventes orgânicos livres de halogênio.

As soluções mencionadas não devem ser descartadas junto com o lixo doméstico. Não circule no abastecimento principal de água. Descarte de acordo com a diretiva 2008/98/EC e de acordo com as exigências locais e nacionais. 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, pipete 800 µl do Mix de Padrão Interno (artigo 92644) em 12.0 ml do 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 3 semanas 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, homogeneize bem.

**MassCheck® Plasma Control (Controles em plasma):** Os controles **MassCheck®** (artigos 0253 e 0254) 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 3 semanas 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, homogeneize 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. O tempo de armazenamento é de até 2 semanas em temperatura ambiente, e por até 4 semanas a +2 a +8°C. Para períodos maiores de armazenamento congele a temperaturas abaixo de -18°C por no máximo 3 meses.

Estes dados de estabilidade foram estabelecidos a partir de amostras de plasma fortificadas. A estabilidade dos analitos nas amostras de pacientes podem variar destes resultados.

## 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.

Os MRMs podem ser ajustados da seguinte forma:

1. Dilua o Tuning Mix (artigo 92039) com a Fase Móvel 2 (artigo 92002) de acordo com o instrumento utilizado (API 4000 aprox. 1:20). Introduza a mistura via conexão-T ou bomba de infusão em 100% de Fase Móvel 2 a um fluxo de 0.6 ml/min.
2. Inicie uma varredura Q1 contínua (MS scan). Otimize todos os parâmetros de fonte de íons, 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 o potencial de saída celular.
4. Analitos com baixa sensibilidade devem ser otimizados novamente.

### Ajustes do instrumento:

A separação das drogas antimicóticas é feita com um gradiente de eluição; o perfil pode ter que ser ajustado devido aos diferentes volumes mortos dos sistemas de HPLC. O perfil de gradiente estabelecido deve ser visto como uma base para otimização.

| Tempo [min.] | Fase Móvel A [%] | Fase Móvel B [%] |
|--------------|------------------|------------------|
| 0.00         | 70               | 30               |
| 0.50         | 70               | 30               |
| 0.51         | 0                | 100              |
| 2.80         | 0                | 100              |
| 2.81         | 70               | 30               |
| 3.20         | 70               | 30               |

### Diluição e volumes de injeção

Para evitar problemas de solubilidade de alguns analitos, as amostras preparadas não devem ser injetadas diluídas. Se for usado um espectrômetro de massas altamente sensível, é recomendado reduzir o volume padrão de injeção de 10 µl. Se uma diluição ainda for necessária, as amostras podem ser diluídas a no máximo 1:12 com o Tampão de Diluição 2 (artigo 92008).

### 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 (IS) correspondente (MRM 1) | MRM 1   | MRM 2   | MRM 3   |
|---------------------|--|---------|---------|---------|
| Fluconazol          | IS2 (311-223)                              | 307-220 | 307-238 | 307-169 |
| 5-Flucitosina       | IS1 (133-115)                              | 130-113 | 130-58  | 130-85  |
| Hidróxi-itraconazol | IS7 (729-400)                              | 721-392 | 721-430 | 721-408 |
| Itraconazol         | IS6 (714-401)                              | 705-392 | 705-432 | 705-335 |
| Cetoconazol         | IS4 (539-497)                              | 531-489 | 531-82  | 531-244 |
| Posaconazol         | IS5 (706-617)                              | 701-614 | 701-683 | 701-343 |
| Voriconazol         | IS3 (353-284)                              | 350-281 | 350-224 | 350-155 |

A seguinte tabela mostra as transições de massas dos padrões internos usados para o conjunto de parâmetros para drogas antimicóticas:

| Padrão Interno (REF 92064) | MRM 1     | MRM 2     | MRM 3     |
|----------------------------|-----------|-----------|-----------|
| ISTD 1                     | 133 - 115 | 133 - 59  | 133 - 87  |
| ISTD 2                     | 311 - 223 | 311 - 242 | 311 - 172 |
| ISTD 3                     | 353 - 284 | 353 - 224 | 353 - 155 |
| ISTD 4                     | 539 - 497 | 539 - 82  | 539 - 244 |
| ISTD 5                     | 706 - 617 | 706 - 687 | 706 - 345 |
| ISTD 6                     | 714 - 401 | 714 - 441 | 714 - 344 |
| ISTD 7                     | 729 - 400 | 729 - 438 | 729 - 416 |

As massas mencionadas acima servem somente como um guia para iniciar. A posição exata do sinal máximo para cada pico de massa varia de sistema MS para sistema MS e deve ser determinado e otimizado individualmente, pelo menos até uma casa decimal. Use o tuning mix apropriado (artigo 92039) para este propósito.

### FAIXAS TERAPÊUTICAS

Devido à rápida metabolização hepática do itraconazol no composto ativo hidróxi-itraconazol, sempre é necessário observar a concentração total do itraconazol (=Σitraconazol + metabólito-OH). Em equilíbrio, o itraconazol e o hidróxi-itraconazol podem ser encontrados no plasma numa taxa típica de 1:1 a 1:2.

As seguintes tabelas listam as faixas terapêuticas publicadas para cada droga neste kit [1-4]. 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 mg/l [1] | Faixa terapêutica mg/l [2] | Faixa terapêutica mg/l [3] | Faixa terapêutica mg/l [4] |
|----------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Fluconazol                       | -                          | -                          | 1 - 5 mg/l                 | 5 - 15                     |
| 5-Flucitosina                    | 25 - 75                    | 20 - 50                    | 35 - 70                    | 25 - 50                    |
| Itraconazol +Hidróxi-itraconazol | 0.4 - 2                    | 0.5 - 2                    | 0.4 - 2                    | 1 - 4                      |
| Cetoconazol                      | 0.5 - 6                    | -                          | 1 - 3                      | 0.3 - 0.5                  |
| Posaconazol                      | -                          | 0.5 - 1.5                  | > 0.7*                     | -                          |
| Voriconazol                      | 1 - 6                      | 0.5 - 6                    | 2 - 6                      | 0.5 - 5                    |

\*para aspergilose invasiva

### INTERFERENTES

A droga para diabetes metformina (1,1-dimetilbiguanida) possui a mesma transição de massa MRM1 130 -> 113 e MRM3 130 -> 85 da 5-Flucitosina e não pode ser distinguida pelo seu tempo de retenção. Para uma identificação mais clara da 5-Flucitosina, o primeiro qualificador (MRM2 130 -> 58) deve ser usado.

A droga antiepiléptica vigabatrina interfere com a transição de massa MRM1 130 -> 113 e MRM2 130 -> 58 da 5-Flucitosina, ambas as substâncias não podem ser distinguidas pelos seus tempos de retenção. Para uma identificação mais clara da 5-Flucitosina, o primeiro qualificador (MRM2 130 -> 58) deve ser usado.

Nos cromatogramas da 5-Flucitosina (MRM1 130 -> 113 e MRM3 130 -> 85) um pico adicional pode ser observado se amostra contiver o inibidor nucleosídeo da transcriptase reversa entricitabina. As substâncias podem ser distinguidas pelos seus tempos de retenção (5-flucitosina elui antes do entricitabina, Δ RT aprox. 0.2 min). Para uma identificação mais clara da 5-Flucitosina, o MRM2 130 -> 58 específico pode ser usado.

A co-medicação do inibidor de protease atazanavir interfere com a transição de massa da substância itraconazol (para ambas as substâncias: MRM1 705 -> 392 e MRM3 705 -> 335), mas as substâncias podem ser distinguidas pelos seus tempos de retenção (atazanavir elui antes do itraconazol, Δ RT aprox. 0.4 min). Para uma identificação mais clara do itraconazol o primeiro qualificador (MRM2 705 -> 432) pode ser usado adicionalmente.

O inibidor de protease ritonavir pode produzir resultados falsos-positivos de hidróxi-itraconazol porque ambas as substâncias não podem ser distinguidas pelos seus tempos de retenção e formam fragmentos idênticos (MRM1 721 -> 392 e MRM3 721 -> 408). Para uma identificação mais clara do hidróxi-itraconazol a transição de massa (MRM2 721 -> 430) pode ser usada adicionalmente.

### Conclusão / Visão Geral:

| Analito             | Interferente                      | Δ RT           | Transição de massa interferida | Transição de massa não interferida |
|---------------------|-----------------------------------|----------------|--------------------------------|------------------------------------|
| 5-Flucitosina       | Metformina (1,1-dimetilbiguanida) | Co-eluição     | 130-113<br>130-85              | 130-58                             |
| 5-Flucitosina       | Vigabatrina                       | Co-eluição     | 130-113<br>130-58              | 130-85                             |
| 5-Flucitosina       | Entricitabina                     | Aprox. 0.2 min | 130-113<br>130-85              | 130-58                             |
| Itraconazol         | Atazanavir                        | Aprox. 0.4 min | 705-392<br>705-335             | 705-432                            |
| Hidróxi-itraconazol | Ritonavir                         | Co-eluição     | 721-392<br>721-408             | 721-430                            |

Amostras em plasma foram fortificadas com as seguintes substâncias e analisadas; nenhuma interferência foi observada:

1-OH-midazolam, 10-OH-carbamazepina, 9-OH-risperidona, abacavir, paracetamol, ácido acetilsalicílico, adefovir, alprazolam, amiodarona, amisulprida, amitriptilina, amoxicilina, amphotericina B, amprenavir, aripripazol, atenolol, atomoxetina, boceprevir, bromazepam, brotizolam, carbamazepina, carbamazepina-diol, carbamazepina-epóxido, cloranfenicol, clordiazepóxido, clorpromazina, clorprotixeno, citalopram, clomipramina, clonazepam, clozapina, codeína, cortisona, darunavir, dasatinibe, desbutil dronedarone, didanosina, delavirdina, demoxepam, desalquilflurazepam, desetilamiodarona, desipramina, desmetilfluoxetina, desmetilmessuximida, desmetilolanzapina, desmetilsertralina, desmetilvenlafaxina, diazepam, diclofenaco, diltiazem, doxepina, dronedarona, duloxetine, efavirenz, elvitegravir, entecavir, etossuzimida, etravirine, felbamato, fenofibrato, flecinida, fosamprenavir, flunitrazepam, fluoxetina, flupentixol, flufenazina, flurazepam, flurazepóxido, fluvoxamina, gabapentina, ganciclovir, haloperidol, ibuprofeno, imatinibe, imipramina, indinavir, isoniacida, keppra, lacosamida, lamivudina, lamotrigina, levofloxacina, levomepromazina, lopinavir, lorazepam, lormetazepam, M8-nelfinavir, maprotilina, maraviroxi, medzepam, metamizol, metilfenidato, metoclopramida, mianserin, midazolam, mirtazapina, montelucaste, ácido micofenólico, ácido micofenólico glicuronídeo, nelfinavir, nevirapina, nilotinibe, nitrazepam, norclozabam, norclopiramina, norclozapina, nordiazepam, nordoxepina, norfludiazepam, norimatinibe, normapratilina, nortrimipramina, nortriptilina, olanzapina, omeprazol, oxazepam, oxcabazepina, paroxetina, PEMA, perazina, fenobarbital, fenitoína, pimozi, pipamperona, prazepam, prednisolona, predinisona, pregabalina, primidona, promazina, prometazina, protriptilina, pirimetamina, quetiapina, reboxetina, raltegravir, ribavirina, rifampicina, rilpivirina, risperidona, ácido ritalínico, rufinamida, ácido salicílico, saquinavir, sertralina, estavudina, estiripentol, sulfadiazina, sulfametoxazol, sultiame, suxibuzona, temazepam, telaprevir, tenofovir, tetrazepam, teofilina, tiagabina, tilidina, tipranavir, topiramato, trazodona, triazolam, trifluperazina, trimetropim, trimipramina, ácido valpróico, venlafaxina, verapamil, varfarina, zalcitabina, zaleplon, zidovudine, ziprasidona, zolpidem, zonisamida, zopiclona.

## Símbolos Usados

|  |  |
|--|--|
|  | Fabricante                               |
|  | Limites de temperatura                   |
|  | Diagnóstico in vitro                     |
|  | Cuidado, consulte documentos anexos      |
|  | Consulte instruções de uso               |
|  | Material Reciclável                      |
|  | Não rejeitar diretamente para o ambiente |
|  | Lote                                     |
|  | Data de Fabricação                       |
|  | Validade                                 |
|  | Risco Biológico                          |
|  | Altamente tóxico                         |
|  | Corrosivo                                |
|  | Nocivo                                   |

**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 10350840346**

**SAC: [sac@biosys.com.br](mailto:sac@biosys.com.br) – (21) 3907-2534 / 0800 015 1414**

**[www.biosys.com.br](http://www.biosys.com.br)**