

24. ŠKOLA HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE

Využití LC-MS/MS v klinické laboratoři

Dr. Martin Švidrnoch
Laboratoř farmakologie a toxikologie
Laboratoře AGEL a.s., Nový Jičín

LABORATOŘ FARMAKOLOGIE A TOXIKOLOGIE

- Poskytuje komplexní služby pro ZZ AGEL a externí klienty v oblast TDM (vybrané skupiny léčiv), klinické toxikologie a pracovního lékařství (BET)
- Celkem 6 VŠ a 4 SŠ
- Akreditace FR ISO 15189:2013 ČIA (odb. 801)
- Intenzivní spolupráce s klinickými farmaceuty ZZ AGEL a laboratořemi mikrobiologie ZZ AGEL

LABORATOŘ FARMAKOLOGIE A TOXIKOLOGIE

- Provádíme některá unikátní vyšetření (vč. TDM) jako jediní v ČR
 - ATB (linezolid, kolistin, oxacilin aj.)
 - Biologická léčba (široké spektrum vč. Ab)
 - NSD
 - AD/NL
 - AE (všechna registrovaná v ČR)

PŘEHLED MONITOROVANÝCH FARMÁK

Antibiotika	Antiepileptika	Imunosupresiva	Toxikologie
A Amikacin před ⁸¹¹	A Brivaracetam ⁹⁶¹²	Cyklosporin A ^{817, 818}	A Alkohol ⁹⁹ U Alkohol ⁶¹³⁹
A Amikacin po ⁸¹²	A Etosuximid ⁵⁶⁰⁵	Everolimus ⁹⁴⁷⁰	A CDT ⁸⁴⁷
A Amoxicilin ^{5609, 9640}	A Felbamát ⁹³⁸⁵	Sirolimus ⁹⁴⁶⁸	A,U Methanol ⁶¹²¹
A Ampicilin ^{5608, 9639}	A Fenobarbital ⁸⁰⁷	Tacrolimus ⁹⁴⁶⁹	A,U Ethylenglykol ⁸⁸²
A Cefotaxim ^{5610, 9642}	A Fenytoin ⁸⁰¹	Kys. mykofenolová ⁹⁰³⁹	B Toluén ⁶¹¹⁵
A Ciprofloxacín ^{5611, 9641}	A Gabapentin ^{6181, 6182}	Biologická léčba	U Ethylglukuronid ⁸⁸³
A Ertapanem ⁹³⁰⁸	A Karbamazepin + M ⁸⁰⁴	Adalimumab ⁶¹²²	U Toxikol.-orient U ^{*891} *
A Flucloxacilin ^{9308, 9643}	A Kys. valproová ⁸⁰⁵	a-Adalimumab ⁶¹²³	U Amfetaminy ³²⁴ *
A Gentamicin před ⁸¹³	A Lacosamid ⁹²⁴⁷	Bevacizumab ⁹⁵⁶⁶	U Barbituráty ³²⁹ *
A Gentamicin po ⁸¹⁴	A Lamotrigin ⁵⁶⁰²	a-Bevacizumab ⁹⁵⁶⁷	U Benzodiazepiny ³³⁰ *
A Imipenem ⁵⁶¹²	A Leveliracetam ^{796, 799}	Cetuximab ⁹⁵⁶⁴	U Kanabinoidy ³²⁸ *
A Klindamycin ^{9635, 9638}	A Oxkarbazepin ⁹³⁸⁴	a-Cetuximab ⁹⁵⁶⁵	U TCA ³³¹ *
A Levofloxacin ⁹³⁰⁸	A Perampnel ⁹⁶¹⁶	Etanercept ⁶²⁹⁴	U Opiáty ³²⁷ *
A Meropenem před ⁵⁶¹³	A Pregabalin ⁹³⁸⁷	a-Etanercept ⁶²⁹⁵	U LSD ⁸⁹³ *
A Meropenem po ⁵⁶¹⁴	A Primidon + M ⁸⁰⁰	Infliximab ¹⁷³²	U Kokain ³²² *
A Oxacilin ^{9631, 9646}	A Retigabin ⁹³⁰	a-Infliximab ¹⁷³³	U Methadon ³²⁶ *
A Penicilin G ^{9632, 9644}	A Rufinamid ⁹³⁸⁶	Trastuzumab ⁹⁵⁶⁸	U Buprenorfin ⁶¹⁷⁹ *
A Penicilin V ^{9634, 9637}	A Stiripentol ⁶³⁰⁸	a-Trastuzumab ⁹⁵⁸⁵	U Tramadol ⁹⁶¹⁵ *
A Piperacilin ^{9613, 9645}	A Sultiam ²⁰³²⁵	Ustekinumab ⁹⁵⁴⁹	A,U Kotinin ⁶²⁸⁶
A Vankomycin před ⁸¹⁵	A Topiramát ⁵⁶⁰⁶	a-Ustekinumab ⁹⁶⁵²	Konfirmace GC/MS, LC/MS ⁸⁹²
A Vankomycin po ⁸¹⁶	A Vigabatrin ^{877, 878}	Vedolizumab ⁶³⁰⁰	
Antiaistmatika	A Zonisamid ⁹²²⁶	a-Vedolizumab ⁶³⁰¹	
A Teofylin ⁸⁰³	A 10-OH-Karbamazepin ⁹³⁹⁵	Kardlo	
Antidiabetika		A Amiodaron + M ⁸⁸¹	
A Metformin ⁹⁴⁹⁵		A Digoxin ⁸⁰²	

PŘEHLED MONITOROVANÝCH FARMAK

Antidepresiva	Antipsychotika	Benzodiazepiny	Antihypertenziva	Antihypertenziva	Hypnotika
A Agomelatin 9355	A Amisulprid 9399	A Alprazolam 6118	A Amlodipin 6101	A Amilorid 9179	A Zolpidem 9367
A Amitriptylin + M 9370	A Aripirazol + M 9371	A Bromazepam 20342	A Betaxolol 6093	A Candesartan 9180	A Zopiklon 9368
A Citalopram + M 9344	A Asenapin 9372	A Clobazam 6163	A Bisoprolol 6092	A Clonidin 6106	Prac. lékařství - BET
A Dosulepin 9375	A Flufenazin 9398	A Diazepam + M 732	A Carvedilol 6094	A Doxazosin 808	X Kys. 5-aminolevulová 6141 ✘
A Doxepin 9684	A Haloperidol 9396	A Chlordiazepoxid 9582	A Enalapril 9187	A Furosemid 6096	X Kys. hippurová 531
A Escitalopram 9345	A Chlorpromazin 9370	A Klonazepam 793	A Felodipin 6102	A Hydrochlorothiazid 6099	X Kys. methylhippurová 532
A Fluoxetin + M 9346	A Chlorprotixen 9369	A Medazepam 9581	A Lerkandipin 9178	A Chlortalidon 6100	X Kys. mandlová 533
A Fluvoxamin 9398	A Klozapin + M 20332	A Midazolam 9579	A Metoprolol 6091	A Indapamid 6143	X Kys. fenylglyoxylová 534
A Imipramin 9398	A Levomepromazin 9614	A Oxazepam 20363	A Nebivolol 884	A Irbesartan 750	X Kys. fenylmerkapturová 524
A Klomipramin 9572	A Lithium 53	A Temazepam 9580	A Nifedipin 9177	A Losartan 6096	X Hydroxy-pyren 530
A Maprotilin 9354	A Lurasidon 9398	TDM Další	A Nitrendipin 9176	A Moxonidin 6104	B Olovo 80 U Olovo 751
A Mirtazapin + M 9353	A Melperon 9357	A Atomoxetin 9398	A Perindopril + M 6088	A Spironolacton + M 9185	B Kadmium 73 U Kadmium 256
A Nortriptylin 9575	A Olanzapin + M 9364	A Fentanyl 9583	A Ramipril + M 6089	A Telmisartan 6095	B Rtuť 522 **
A Paroxetin 9348	A Paliperidon 9363	A Metylfenidát + M 9379	A Trandolapril + M 6090	A Rilmenidin 6105	U Arsen 523 **
A Sertralin + M 9349	A Promethazin 9576	A Paracetamol 2019	A Verapamil 6103	A Urapidil 9181	U Nikl 6124 S Nikl 23253
A Tianeptin 9376	A Quetiapin + M 9182	A Tramadol + M 9373		A Valsartan 6097	U Chrom 6125 S Chrom 72
A Trazodon 9343	A Risperidon + M 9361	Kognitiva			U Mangan 963 S Mangan 71
A Venlafaxin + M 9351	A Serindol 9398	A Donepezil 9462			
A Vortioxetin 9398	A Sulpind 9390	A Memantin 9461			
	A Tiaprid 9358	A Rivastigmin 9463			
	A Ziprasidon 9365				
	A Zotepin 9366				

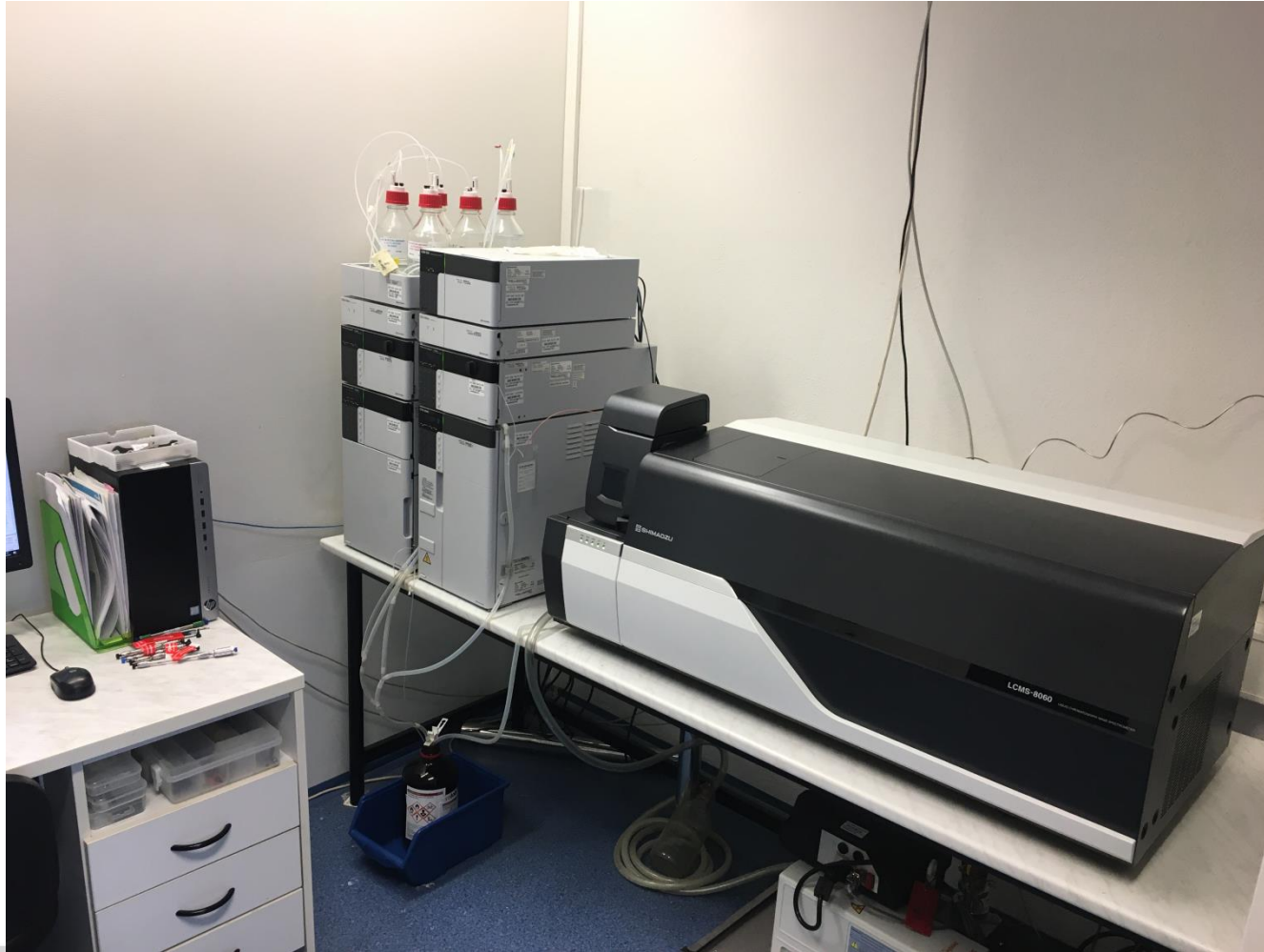
Jiná léčiva

A mnoho dalšího: antimykotika, PAD, ATB...

Průkaz jiných léčiv při suspektivní intoxikaci:

<input type="checkbox"/> intoxikace náhodná	<input type="checkbox"/> předpokládaná škodlivina
<input type="checkbox"/> toxikomanie	<input type="checkbox"/> medikace před odběrem:
<input type="checkbox"/> jiné	materiál: <input type="checkbox"/> moč <input type="checkbox"/> obsah žaludku <input type="checkbox"/> smolka

CO K TOMU NYNÍ POUŽÍVÁME?
HPLC Nexera X2 LC30-AD / MS 8060



Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

ROBUSTNOST

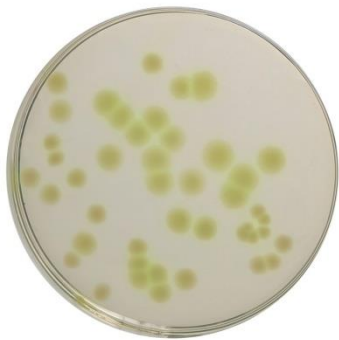
RYCHLOST

SPRÁVNOST

JEDNODUCHOST

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

RYCHLOST

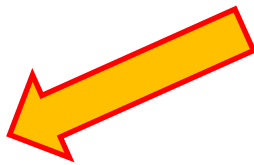
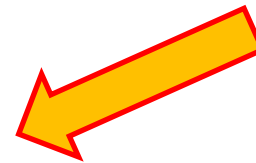


Klinická mikrobiologie
EUCAST
Lokální výskyt



Př. *P. aeruginosa*
Citlivost kolistin + fosfomycin

Nově bude u pacientů ve zvýšené
míře nasazován KOL / FOS



Laboratoř – metoda pro TDM
„včera bylo pozdě“



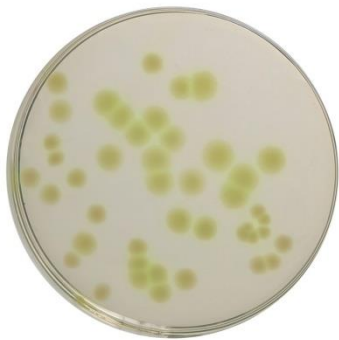
Vývoj metody,
testování,
validace (verifikace)



Pacient

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

RYCHLOST



Klinická mikrobiologie
EUCAST
Lokální výskyt

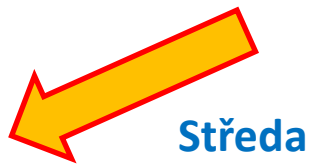


Př. *P. aeruginosa*
Citlivost kolistin + fosfomycin

Nově bude u pacientů ve zvýšené
míře nasazován KOL / FOS



Pondělí



Středa

Laboratoř – metoda pro TDM
„včera bylo pozdě“

Čtvrtek



Vývoj metody,
testování,
validace (verifikace)

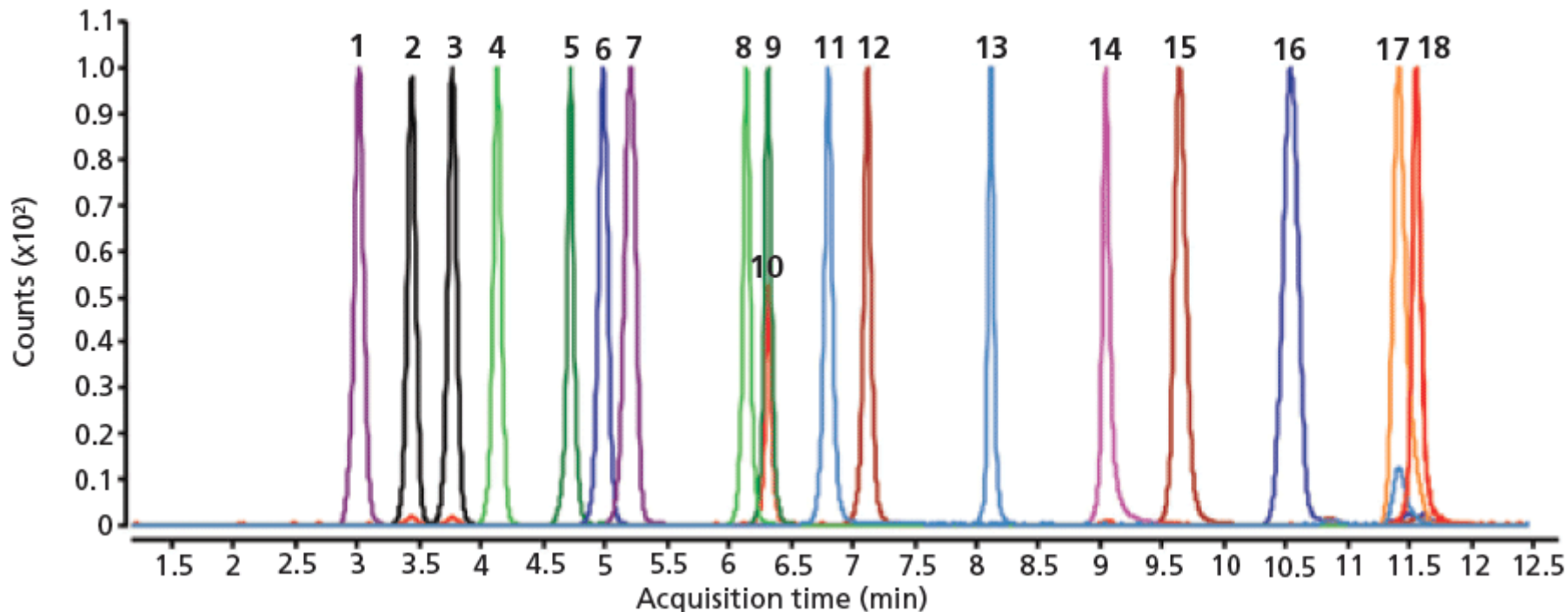
Pátek 😊



Pacient

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

RYCHLOST

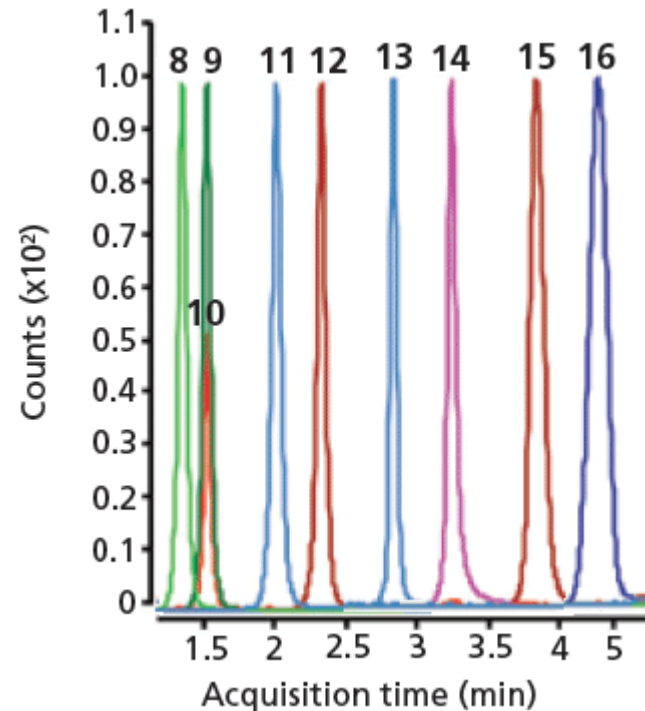
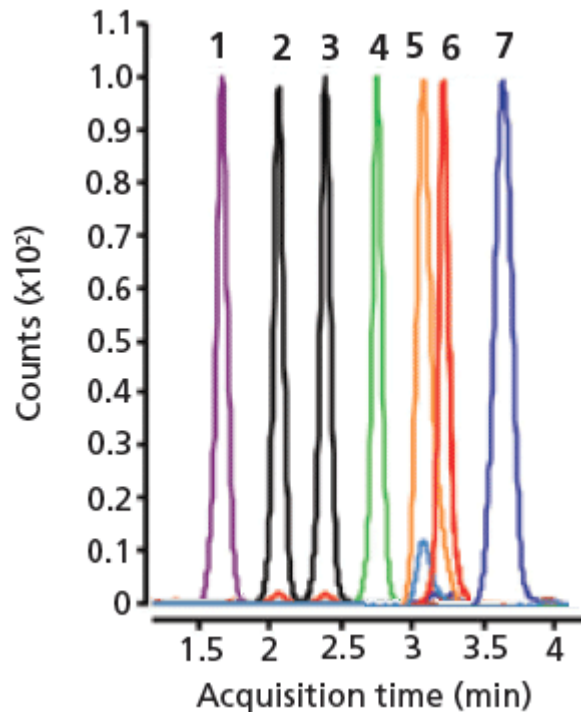


18 hypotetických analytů, metoda 12.5 min (+3 min vrácení gradientu)

20 vzorků > 5 hodin

Požadavky na LS-MS klinické laboratoři

RYCHLOST



Požadavky na LS-MS klinické laboratoři

Příklad z praxe

- Vzorek krve pacienta léčeného ATB odebrán 2 hod před podáním další dávky
- Odběr ve 12:00, do laboratoře se dostane ve 13:00
- Výsledek musí být hotov vč. interpretace do podání další dávky (14:00)

The screenshot shows a software window with a list of events. The window has standard OS controls (minimize, maximize, close) in the top right corner. Below these are 'Up' and 'Down' buttons. The main area contains a table with four columns: 'Date Registered', 'Waiting', 'Estimated End Ti...', and 'Startup/Shutdown'. The table is sorted by 'Date Registered' in descending order. Two entries are circled in red: '20.04.2023 11:03' and '21.04.2023 8:15'. At the bottom right of the window are 'Close' and 'Help' buttons.

Date Registered	Waiting	Estimated End Ti...	Startup/Shutdown
20.04.2023 15:16		20.04.2023 17:15	
20.04.2023 11:03		20.04.2023 17:30	Shutdown
20.04.2023 15:48		20.04.2023 18:15	Shutdown
20.04.2023 13:17		20.04.2023 22:30	
20.04.2023 13:20		20.04.2023 23:30	
20.04.2023 13:31		21.04.2023 2:00	Shutdown
20.04.2023 14:04		21.04.2023 3:00	Shutdown
20.04.2023 14:58		21.04.2023 8:15	Shutdown



V MAXIMU FUNGOVALO
LC-MS/MS 8060 **28 hod.**

OPERÁTOR MAX 8 hod.

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

ROBUSTNOST

- Tolerance metody k chybám či odchýlkám od požadovaného standardu

„10 mM NaAc vs 12 mM NaAc“

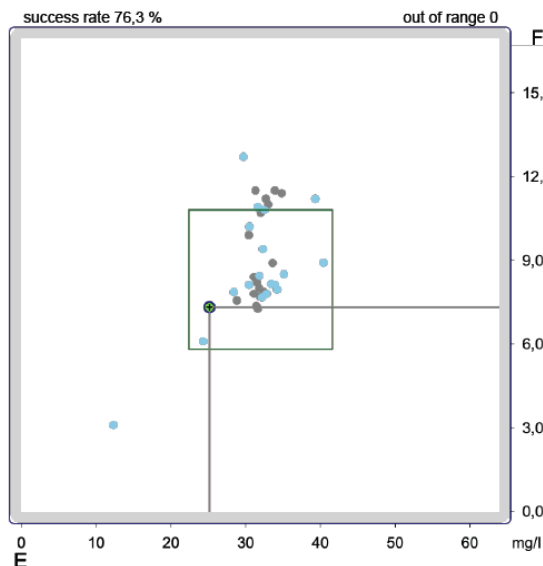
- Schopnost instrumentace zvládnout rozličné matrice v průběhu dne
- Reprodukovatelnost výsledků v předem definovaných mezích
- Intra-day změny parametrů separace/detekce (MF, kolony, T, průtok, polarita...)
- Nízká (ideálně nulová) chybovost přístroje (tzv. „Rally Dakar“)

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

SPRÁVNOST

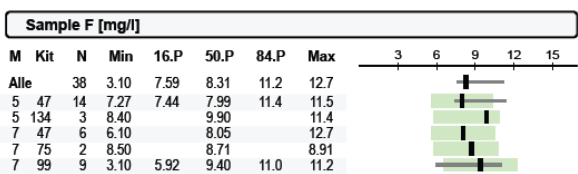
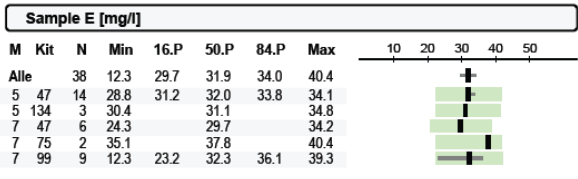
- Účast na EHK

Analyte **Meropenem**
Method all methods



No of participants	38	
sample/unit	E	F
mean	31.5	8.95
standard deviation	4.33	1.95
coefficient of variation	13.7	21.8

Youden plots AK3/23, Participant No 9900444, page 2 of 2



Other kits (number):
5-99(1), 7-72(1), 7-134(1), > 7-135(1)<

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

JEDNODUCHOST

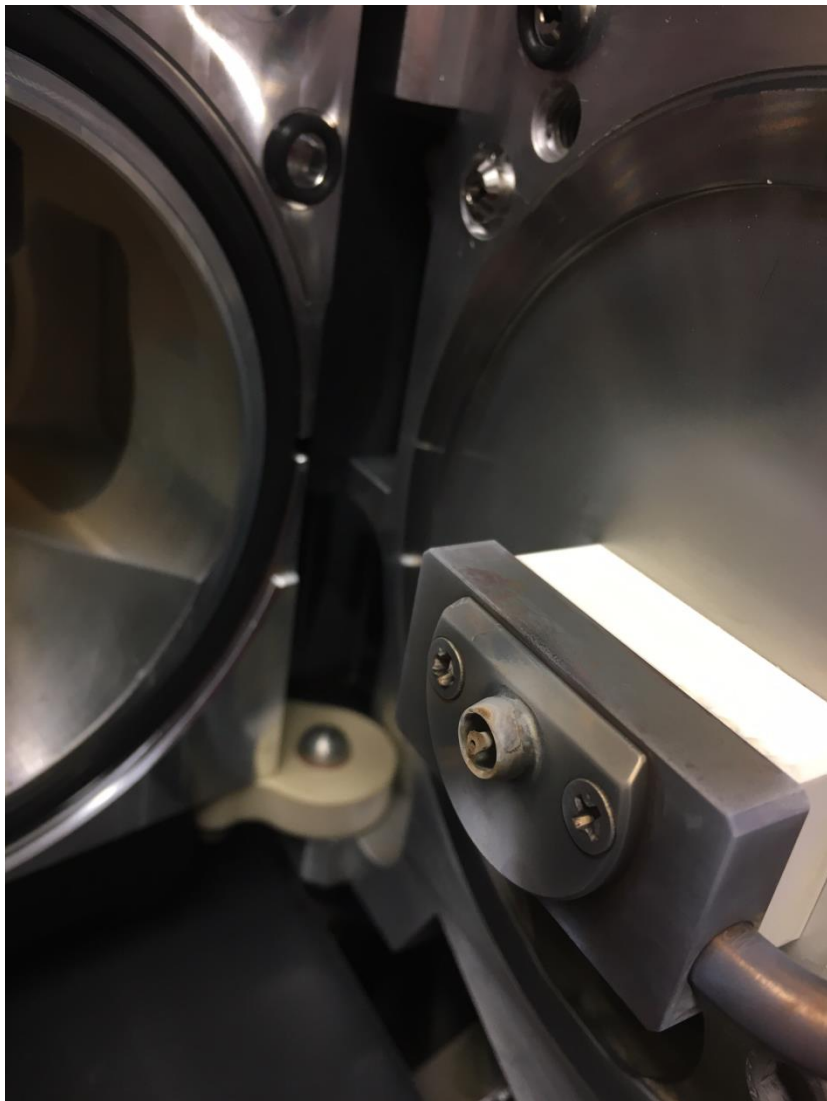
- Příprava vzorku
- Analytická metoda
- Software

Vše musí být co nejjednodušší a srozumitelné tak, aby základní práci zvládl SŠ pracovník (laborant)

- **Troubleshooting**

Jednoduché opravy, výměny a údržbu může provádět proškolený personál

Pravidelná údržba iontového zdroje



Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

IVD-R



Regulation (EU) 2017/746

Požadavky na LS-MS v klinické laboratoři

IVD-R

Př. IVDR metody, kterou nelze v praxi použít (za současné regulační vyhlášky MZ)

Stanovení MEROPENEMU při dodržení IVDR:

- 1) Komerční kit (náklad cca 30 – 50 tisíc Kč)
- 2) CRM materiál (ST, K) – náklady na balení 3x kalibrátor + 2x kontrola cca 15 tisíc Kč)
- 3) Stabilita meropenemu po rekonstituci 7-10 dnů při -20 °C

Výkon ZP: cca 450 bodů

Cena 1 vyšetření v režimu IVDR?

NA CO SE TĚŠÍME?

Enhanced Performance

Sensitivity and Robustness

LCMS-8060NX



**ANALYTICAL
INTELLIGENCE**

CLAM 2040



Závěr a poděkování

Mým kolegům v laboratoři

**Míša Balášová
Erika Rybaříková
Zuzka Birkáš**

**A VÁM VŠE MNOHOKRÁT DĚKUJI
ZA VAŠI POZORNOST**

DĚKUJI ZA POZORNOST