

# IDK<sup>®</sup> Psychotropic Medication 1 LC-MS/MS Kit

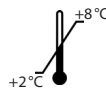
*Zur in-vitro-Bestimmung von  
elf Psychopharmaka in Serum*

*For the in vitro determination of  
eleven psychotropic medications in serum*

Gültig ab / Valid from 2023-03-16

**REF** KM6310

$\Sigma$   
300



**IVD**

**CE**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)



# Inhalt

<b>1. VERWENDUNGSZWECK</b>	<b>2</b>
<b>2. EINLEITUNG</b>	<b>2</b>
<b>3. MITGELIEFERTE MATERIALIEN</b>	<b>4</b>
<b>4. BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM KIT ENTHALTEN)</b>	<b>4</b>
<b>5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN</b>	<b>5</b>
<i>Kalibratoren und Kontrollen</i>	5
<i>Fällungsreagenz</i>	5
<i>Mobile Phase A und B</i>	6
<i>Autosampler Waschlösung</i>	6
<b>6. HALTBARKEIT, STABILITÄT UND VORBEREITUNG DER PROBE</b>	<b>6</b>
<b>7. LC-MS/MS METHODE</b>	<b>7</b>
<b>8. MUSTERCHROMATOGRAMME</b>	<b>7</b>
<b>9. QUALITÄTSKONTROLLE</b>	<b>10</b>
<i>Ergebnisse der LC-MS/MS und Referenzwerte</i>	10
<b>10. TESTCHARAKTERISTIKA</b>	<b>11</b>
<i>Wiederholbarkeit - intra-day Präzision</i>	11
<i>Reproduzierbarkeit - inter-day Präzision</i>	11
<i>Messbereich mit Quantifizierungsgrenze (LOQ)</i>	12
<b>11. VORSICHTSMASSNAHMEN</b>	<b>12</b>
<b>12. ENTSORGUNG</b>	<b>13</b>
<b>13. TECHNISCHE MERKMALE</b>	<b>13</b>
<b>14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST</b>	<b>13</b>
<b>15. LITERATUR</b>	<b>14</b>

## 1. VERWENDUNGSZWECK

Der Verwendungszweck dieses Kits ist die Unterstützung der therapeutischen Arzneimittelüberwachung (TDM) von verschiedenen Psychopharmaka (Clozapin, Norclozapin, Nortriptylin, E-10-OH-Nortriptylin, Z-10-OH-Nortriptylin, Amitriptylin, Clomipramin, Norclomipramin, Imipramin, Desipramin & Zuclopenthixol). Die Bestimmung der Medikamentenspiegel erfolgt durch Quantifizierung der Psychopharmaka in Serum mittels automatisierter quantitativer LC-MS/MS-Assay-Technologie. Dieses Kit ist nur für den professionellen Gebrauch im Labor bestimmt.

## 2. EINLEITUNG

Die therapeutische Arzneimittelüberwachung (TDM) basiert auf der Annahme, dass ein Zusammenhang zwischen Blutkonzentration und klinischer Wirkung (therapeutische Verbesserung und unerwünschte Wirkungen) besteht. Außerdem wird angenommen, dass es einen Konzentrationsbereich des Arzneimittels gibt, das "therapeutische Fenster", welches durch maximale Wirksamkeit und maximale Sicherheit gekennzeichnet ist [1]. Dieser LC-MS/MS-Assay von Immundiagnostik umfasst Amitriptylin, Nortriptylin, Clomipramin, Imipramin und Desipramin (einschließlich ihrer Metaboliten) für trizyklische Antidepressiva (TCAs) sowie das Antipsychotikum Clozapin (einschließlich des Metaboliten Norclozapin).

Die TCAs Amitriptylin, Nortriptylin, Clomipramin, Imipramin und Desipramin werden zur Behandlung verschiedener Arten von Depressionen, Zwangsstörungen, neuropathischen Schmerzen, nächtlichem Einnässen und zur prophylaktischen Behandlung von chronischen Spannungskopfschmerzen und Migräne eingesetzt [2-5]. TCAs haben eine ausgeprägte interindividuelle pharmakokinetische Variabilität und ein enges therapeutisches Fenster. Studien über den Zusammenhang zwischen Blutkonzentration und klinischer Verbesserung haben diesen Zusammenhang für TCAs bestätigt [1]. Systematische Übersichten und Meta-Analysen lieferten überzeugende Belege für einen signifikanten Zusammenhang zwischen klinischen Ergebnissen und Plasmakonzentrationen der TCAs, die mit einer hohen Wahrscheinlichkeit des Ansprechens verbunden sind [1,6-8].

Das TDM von Amitriptylin, Nortriptylin, Clomipramin, Imipramin und Desipramin wird in den Konsensleitlinien für das TDM in der Psychiatrie [1] dringend empfohlen. In den Leitlinien heißt es, dass die gemeldeten Arzneimittelkonzentrationen als therapeutische Referenzbereiche festgelegt und bewertet werden. Kontrollierte klinische Studien haben positive Auswirkungen von TDM gezeigt, und es liegen Berichte über eine verminderte Verträglichkeit oder Intoxikationen vor. TDM wird daher dringend empfohlen für die Dosisitration zu Beginn der Behandlung und bei besonderen Indikationen, z. B. bei Patienten mit Therapieversagen, unerwünschten Ereignissen, Wechselwirkungen zwischen Arzneimitteln, relevanten

Begleiterkrankungen, veränderter CYP2D6- oder CYP2C19-Stoffwechselaktivität und bei Verdacht auf Non-Adhärenz. Für die TCAs basieren die Referenzkonzentrationen auf der Literatur und ein Überblick über die Zielkonzentrationen findet sich in mehreren Artikeln und den Konsensleitlinien für TDM in der Psychiatrie [1,6-8]. Darüber hinaus ist der therapeutische Bereich für Amitriptylin und Nortriptylin in der Zusammenfassung der Produktmerkmale (SPC) dieser Arzneimittel angegeben [2,3]. Clozapin wird bei behandlungsresistenten schizophrenen Patienten und bei Schizophrenie-Patienten verwendet, die schwere Nebenwirkungen auf andere Antipsychotika, einschließlich atypischer Antipsychotika, aufweisen. Clozapin wird auch bei psychotischen Störungen im Zusammenhang mit der Parkinson-Krankheit angewandt, wenn die Standardbehandlung versagt hat. In der SPC wird in bestimmten klinischen Situationen ein TDM von Clozapin empfohlen, z. B. wenn ein Patient mit dem Rauchen aufhört oder auf E-Zigaretten umsteigt (ein veränderter Clozapin-Stoffwechsel kann zu einer veränderten Clozapin-Exposition führen), wenn gleichzeitig eingenommene Arzneimittel Wechselwirkungen aufweisen und die Clozapin-Blutkonzentration erhöhen oder verringern können, wenn der Verdacht auf einen schlechten Clozapin-Stoffwechsel besteht, wenn ein Patient eine Lungenentzündung oder eine andere schwere Infektion hat und beim Auftreten von Symptomen, die auf eine Toxizität hinweisen (unerwünschte Ereignisse) [9]. Darüber hinaus wird eine hohe pharmakokinetische Variabilität von Clozapin zwischen Patienten beobachtet [10]. Diese pharmakokinetische Variabilität in Kombination mit einer guten Korrelation zwischen Clozapin-Blutkonzentrationen und Wirksamkeit/Toxizität macht das TDM auch zu Beginn der Clozapin-Behandlung für die Dosistitration, bei unzureichendem Ansprechen auf die Behandlung, bei vermuteter Non-Adhärenz und bei der Verwendung hoher Clozapin-Dosen nützlich [11-14]. Das TDM von Clozapin wird daher in den Konsensus-Leitlinien für das TDM in der Psychiatrie dringend empfohlen [1].

Neben dem TDM ist die Messung der Blutkonzentration von TCAs und Antipsychotika hilfreich für das Management einer Intoxikation mit einem dieser Medikamente [15-17]. Es ist bekannt, dass diese Medikamente ein kleines therapeutisches Fenster haben und Anzeichen von Toxizität rein klinisch nicht immer leicht zu erkennen sind. Daher hilft die Messung der Blutkonzentrationen bei der Identifizierung von Vergiftungen und bei der klinischen Behandlung der Patienten.

### 3. MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Art.-Nr.	Bezeichnung	Kit-Komponenten	Menge
KM6310	AUTOWASH	Autosampler Waschlösung	1 x 1 000 ml
	CAL1–6	Kalibratoren 1–6, lyophilisiert (Konzentration siehe Produktspezifikation)	2 Fläschchen (à 500 µl) pro Konzentration
	CTRL1–3	Kontrollen 1–3, lyophilisiert (Konzentration siehe Produktspezifikation)	3 Fläschchen (à 500 µl) pro Konzentration
	PREC	Fällungsreagenz (enthält den internen Standard)	3 x 100 ml
	MOPHAA	Laufmittel A	1 x 500 ml
	MOPHAB	Laufmittel B	1 x 500 ml

Bitte verwenden Sie für Nachbestellungen von Einzelkomponenten als Bestellnummer die Artikelnummer gefolgt von der Bezeichnung ohne Leerzeichen.

### 4. BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM KIT ENTHALTEN)

Folgendes Zubehör wird für die *IDK*® Psychopharmaka LC-MS/MS Applikation benötigt (nicht im Kit enthalten):

- Präzisionspipetten und Einmalpipettenspitzen mit variablen Volumina von 10–1 000 µl
- Zentrifuge, 10 000 g
- Vortex-Mixer
- Standard-Labor-Einmalreaktionsgefäße aus Kunststoff (z. B. 1,5 ml)
- LC-MS/MS-Anlage und passende LC-MS Probenvials
- Reinstwasser\*

\* Immundiagnostik AG empfiehlt die Verwendung von Reinstwasser nach ISO 3696. Es handelt sich dabei um Wasser des Typs 1, welches frei von ungelösten und kolloidalen Ionen und organischen Molekülen ist (frei von Partikeln > 0,2 µm) mit einer elektrischen Leitfähigkeit von 0,055 µS/cm bei 25 °C (≥ 18,2 MΩ cm).

Separat kann folgendes Zubehör für die *IDK*® Psychopharmaka LC-MS/MS Applikation bei der Immundiagnostik AG bestellt werden:

- UPLC Säule (KM6310SP)
- alle Einzelkomponenten

Bitte kontaktieren Sie uns für Ihre individuelle Lösung und fordern Sie unsere Einzelkomponenten-Preisliste an.

## 5. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

**Hinweis:** Bitte nehmen Sie die Kit-Komponenten sofort nach Erhalt aus der Transportverpackung und beachten Sie die auf den Produktetiketten aufgedruckten Hinweise zu den Lagerbedingungen.

Alle Komponenten sollten lichtgeschützt, trocken und bei der angegebenen Lagertemperatur gelagert werden. Die so gelagerten Testreagenzien sind bis zum angegebenen Verfallsdatum verwendbar. Die angegebenen Stabilitäten gelten nur, wenn keine bakterielle Kontamination vorliegt.

### *Kalibratoren und Kontrollen*

#### **Handhabung:**

Entfernen Sie die Kappe und den Gummistopfen stets vorsichtig (um Verluste des Inhalts zu vermeiden).

Rekonstituieren Sie die Kalibratoren und Kontrollen wie folgt:

- Rekonstituieren Sie jeden CAL und jede CTRL mit genau 500 µl destilliertem oder deionisiertem Wasser und inkubieren Sie diese 15 min bei Raumtemperatur.
- Die Komponente anschließend gründlich mischen, um sicherzustellen, dass sich das gesamte Trockenmaterial aufgelöst hat; dabei nicht zu stark schütteln, um Schaumbildung zu vermeiden.
- Die angesetzte Komponente während des Testverfahrens wie eine Patientenprobe handhaben.

#### **Stabilität und Lagerung:**

Vor der Rekonstitution:	2–8°C	Bis zu dem auf dem Produktetikett angegebenen Verfallsdatum.
nach der Rekonstitution:	2–8°C	48 h
nach der Rekonstitution:	-20°C	2 Wochen

### *Fällungsreagenz*

#### **Handhabung:**

Das Produkt ist flüssig und gebrauchsfertig.

#### **Stabilität und Lagerung:**

Lagerung bei 2–8°C Die Komponente kann nach dem ersten Öffnen bis zu 4 Wochen verwendet werden

## Mobile Phase A und B

### Handhabung:

Die Komponente ist flüssig und gebrauchsfertig.

### Stabilität und Lagerung:

Lagerung bei 2–8 °C Die Komponente kann verschlossen bis zu 6 Wochen nach dem ersten Öffnen oder bis zu 2 Wochen auf der UHPLC verwendet werden.

Lagerung bei RT Vor dem ersten Öffnen kann die Komponente für 12 Wochen bei Raumtemperatur gelagert werden.

## Autosampler Waschlösung

### Handhabung:

Das Produkt ist flüssig und gebrauchsfertig.

### Stabilität und Lagerung:

Lagerung bei 2–8 °C Die Komponente kann verschlossen bis zu 6 Wochen nach dem ersten Öffnen oder bis zu 2 Wochen auf der UHPLC verwendet werden.

## 6. HALTBARKEIT, STABILITÄT UND VORBEREITUNG DER PROBE

### Stabilität und Lagerung:

Als Probe eignet sich Serum.

Wiederholte Auftau- und Einfrierzyklen sind zu vermeiden.

Proben können gelagert werden: 3 Monate bei -20 °C

### Probenvorbereitung

	1.5 ml reaction tube	96-well plate
1.	25 µl Probe, CAL oder CTRL in eine Kavität bzw. ein Reaktionsgefäß vorlegen.	
2.	1 000 µl PREC hinzugeben.	
3.	Reaktionsgefäß für mind. 30s. vortexen.	Platte mind. 15 min schütteln lassen.



4.	Zentrifugation bei mind. 10 000 g für 5 min.
5.	Den Überstand in ein geeignetes LC-MS-Probenvial oder 96-Well-Platte für den LC-MS-Autosampler überführen.
6.	Injektion in das LC-MS/MS System (siehe Application Note).

## 7. LC-MS/MS METHODE

Die Parameter zur Einstellung der LC-MS/MS-Methode entnehmen Sie bitte der Application Note oder wenden Sie sich an [lcms@immundiagnostik.com](mailto:lcms@immundiagnostik.com).

## 8. MUSTERCHROMATOGRAMME

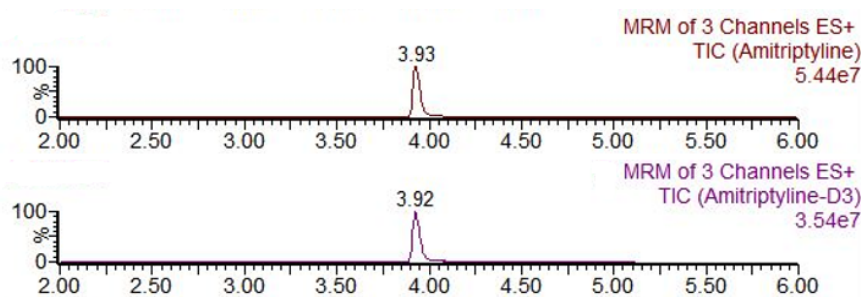


Abb. 1: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben) und den internen Standard (unten) von Amitriptylin.

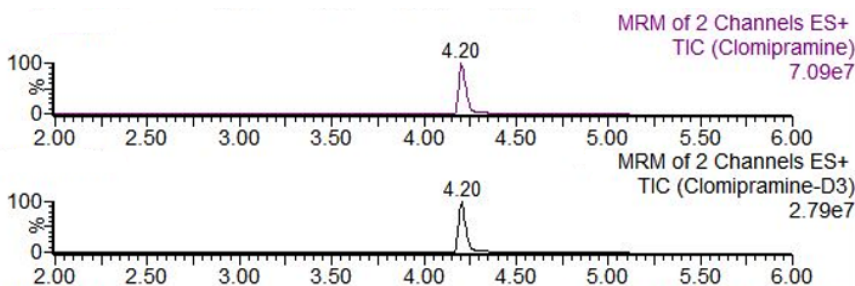


Abb. 2: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben) und den internen Standard (unten) von Clomipramin.

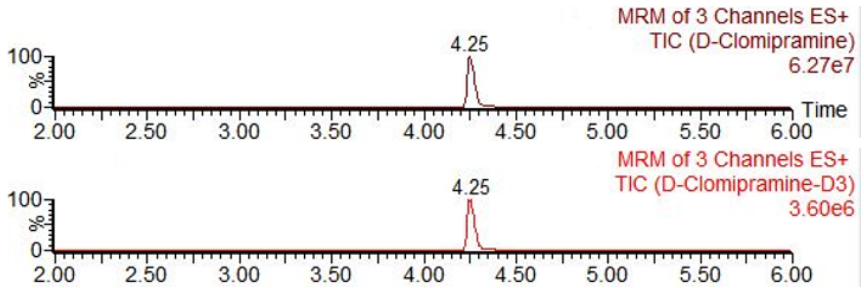


Abb. 3: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben) und den internen Standard (unten) von Norclomipramin (D-Clomipramin).

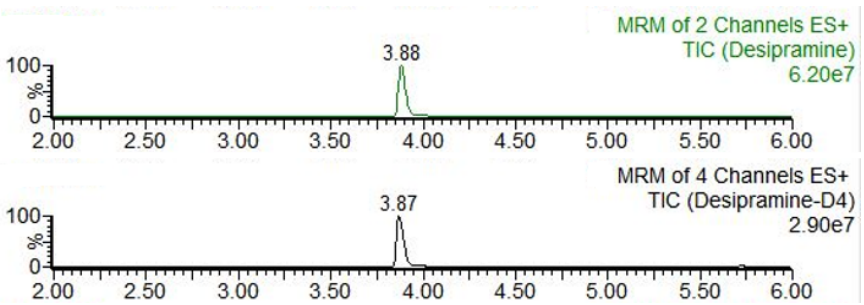


Abb. 4: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben) und den internen Standard (unten) von Desipramin.

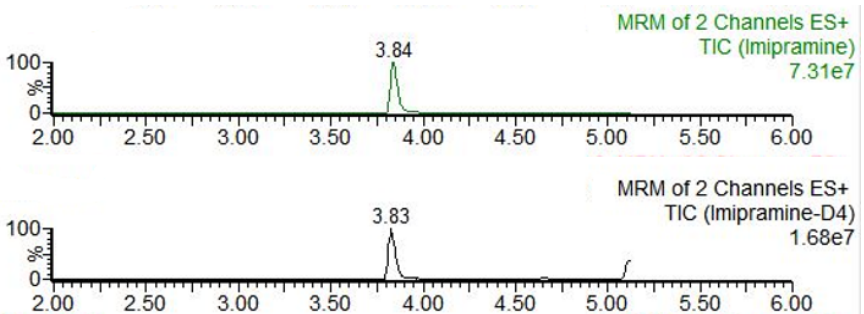


Abb. 5: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben) und den internen Standard (unten) von Imipramin.

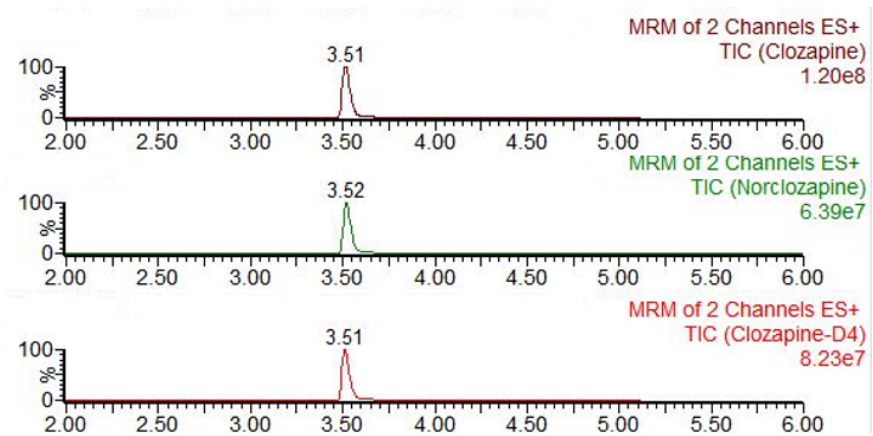


Abb. 6: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben, mitte) von Clozapin und Norclozapin und den internen Standard (unten) von Clozapin.

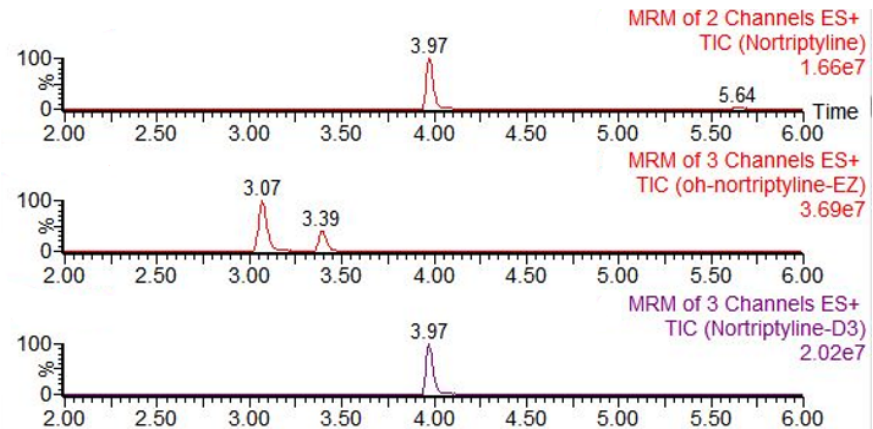


Abb. 7: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben, mitte) von Nortriptylin und E/Z-10-OH-Nortriptylin (E-OH-Nortriptylin besitzt die kürzere Retentionszeit) und den internen Standard (unten) von Nortriptylin.

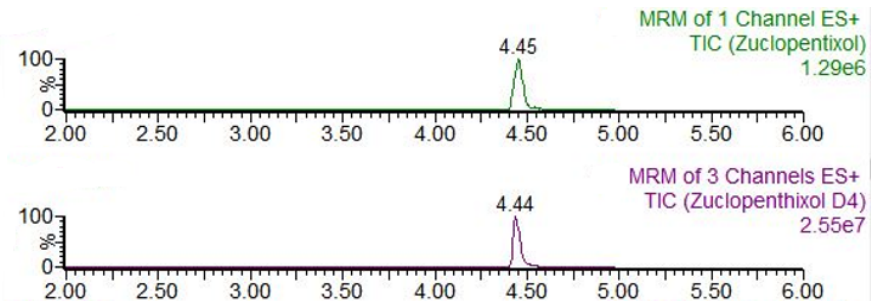


Abb. 8: Chromatogramm (mit einer Waters TQS LC-MS/MS aufgenommen) für den Analyten (oben) und den internen Standard (unten) von Zuclopentixol.

## 9. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen Kontrollen bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen werden verwendet, um die Genauigkeit der Methode zu bestätigen. Liegen einer oder mehrere Werte der Qualitätskontrolle außerhalb des angegebenen Bereiches (siehe Produktspezifikation), kann Immundiagnostik AG die Richtigkeit der Testergebnisse nicht gewährleisten.

### *Ergebnisse der LC-MS/MS und Referenzwerte*

Der Test liefert einen bestimmten Wert für den Analyten, der immer mit entsprechenden Referenzwerten verglichen werden muss, um ihn für den jeweiligen Patienten zu interpretieren.

Da die gemessenen Substanzen im menschlichen Körper nicht natürlich vorkommen, können keine klassischen Referenzwerte wie bei endogenen Substanzen herangezogen werden. Für pharmazeutische Substanzen gelten andere Werte, wie z.B. Normaldosierung, Obergrenze und Toxizität. Da diese Informationen (patienten-)spezifisch und technischer Natur sind, verweist die Immundiagnostik AG auf das medizinische Fachpersonal, unter dessen Aufsicht die Tests durchgeführt werden [1-4].

Wenden Sie sich für die Interpretation der Ergebnisse immer an eine ausgebildete medizinische Fachkraft, die über Fachwissen auf dem Gebiet verfügt, für das dieser Test entwickelt wurde.

Die Interpretation der Ergebnisse dieses Tests hängt auch wesentlich von den individuellen Merkmalen des betreffenden Patienten ab. Die Immundiagnostik AG empfiehlt, auch diese Angaben zu berücksichtigen.

## 10. TESTCHARAKTERISTIKA

### Wiederholbarkeit - intra-day Präzision

Probe	CV		
	Kontrolle 1 [%]	Kontrolle 3 [%]	Patientenprobe [%]
Amitriptylin	3.7	1.8	2.3
Clomipramin	2.0	1.2	1.7
Clozapin	2.4	1.3	1.6
Desipramin	2.8	1.5	2.2
Imipramin	4.1	2.2	3.3
Norclomipramin	2.3	1.2	1.8
Norclozapin	3.3	1.9	2.2
Nortriptylin	6.6	4.6	4.5
E-10-OH-Nortriptylin	4.0	3.5	3.5
Z-10-OH-Nortriptylin	4.1	3.5	5.3
Zuclopenthixol	10.6	6.0	5.8

### Reproduzierbarkeit - inter-day Präzision

Probe	CV		
	Kontrolle 1 [%]	Kontrolle 3 [%]	Patientenprobe [%]
Amitriptyline	8.0	5.0	4.7
Clomipramin	6.4	4.6	5.9
Clozapin	4.9	4.8	4.7
Desipramin	4.9	4.4	5.5
Imipramin	7.1	6.6	6.0
Norclomipramin	6.8	4.9	5.5
Norclozapin	5.0	4.4	4.7
Nortriptylin	10.6	4.6	5.4
E-10-OH-Nortriptylin	8.1	5.0	6.0
Z-10-OH-Nortriptylin	8.1	5.1	6.1
Zuclopenthixol	13.0	6.8	9.1

*Messbereich mit Quantifizierungsgrenze (LOQ)*

<b>Analyt</b>	<b>[µg/l]</b>
Amitriptyline	< 3.66–1 800
Clomipramin	< 6.12–1 400
Clozapin	< 11.05–2 200
Desipramin	< 4.27–1 200
Imipramin	< 4.97–2 000
Norclomipramin	< 4.31–1 175
Norclozapin	< 6.46–2 600
Nortriptylin	5.60–1 250
E-10-OH-Nortriptylin	15.75–1 500
Z-10-OH-Nortriptylin	4.32–288
Zuclopenthixol	TBD–290

**11. VORSICHTSMASSNAHMEN**

- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf Hepatitis B-Oberflächenantigen und Antikörper für HIV-1, HIV-2 und HIV p24 Antigen, anti-HTLV 1&2, HCV, HIV-Genom sowie Syphilis getestet und für negativ befunden. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Es sind die auf den Einzelkomponenten angegebenen GHS-Symbole und Spezifikationen der Sicherheitsdatenblätter (auf Anfrage bei Immundiagnostik AG erhältlich) zu beachten. Beim Arbeiten mit diesen Reagenzien sind die gesetzlichen Schutzvorkehrungen einzuhalten.
- Reagenzien dieser Testpackung enthalten organische Lösungsmittel. Berührungen mit der Haut oder den Schleimhäuten sind zu vermeiden.

## 12. ENTSORGUNG

Autosampler Waschlösung (AUTOWASH), Laufmittel A (MOPHAA), Laufmittel B (MOPHAB) und Fällungsreagenz (PREC) müssen als halogenfreier Lösungsmittelabfall entsorgt werden.

Die Kalibratoren (CAL1–6) und Kontrollen (CTRL1–3) sollten als potentiell infektiöses Material gemäß der örtlichen Vorschriften entsorgt werden.

## 13. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Die Bestimmung ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.
- Stopfen und Verschlüsse verschiedener Reagenzien dürfen nicht vertauscht werden.
- Die Einzelkomponenten des Kits sind maximal für die angegebene Anzahl an Testdurchführungen ausgelegt. Ein bereits verwendeter Anteil der Komponenten darf nicht wiederverwendet werden.

## 14. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- IDK® ist eine Marke der Immundiagnostik AG.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zur *In-vitro*-Diagnostik verwendet werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.

- Schwerwiegende Vorkommnisse sind der Immundiagnostik AG und den nationalen Aufsichtsbehörden zu melden.
- Sollten eine oder mehrere Komponenten des Testkits beschädigt, unvollständig (siehe Liste der Testbestandteile) oder Präzipitate in den gebrauchsfertigen Lösungen sichtbar sein, kontaktieren Sie bitte Immundiagnostik AG.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller, der Immundiagnostik AG, zurückzusenden.







## 15. LITERATUR

1. Hiemke et al. AGNP Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry: Update 2011. *Pharmacopsychiatry* 2011;44(6):195-235.
2. Summary of Product Characteristics Amitriptyline. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
3. Summary of Product Characteristics Nortriptyline. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
4. Summary of Product Characteristics Imipramine. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
5. Summary of Product Characteristics Clomipramine. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
6. Ulrich et al. Comprehensive survey of the relationship between serum concentration and therapeutic effect of amitriptyline in depression. *Clin Pharmacokinet* 2002;41(11):853-76.
7. Mavissakalian et al. Clomipramine in obsessive-compulsive disorder: clinical response and plasma levels. *J Clin Psychopharmacol* 1990;10(4):261-8.
8. Gex-Fabry et al. Clomipramine concentration as a predictor of delayed response: a naturalistic study. *Eur J Clin Pharmacol* 1999;54(12):895-902.
9. Summary of Product Characteristics Zaponex. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
10. Potkin et al. Plasma clozapine concentrations predict clinical response in treatment-resistant schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 1994;55 Suppl B:133-6.
11. Perry et al. Clozapine and norclozapine plasma concentrations and clinical response of treatment-refractory schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1991;148(2):231-5.



12. Couchman et al. Plasma clozapine, norclozapine, and the clozapine:norclozapine ratio in relation to prescribed dose and other factors: data from a therapeutic drug monitoring service, 1993-2007. *Ther Drug Monit* 2010;32(4):438-47.
13. Mauri et al. Clinical pharmacokinetics of atypical antipsychotics: a critical review of the relationship between plasma concentrations and clinical response. *Clin Pharmacokinet* 2007;46(5):359-88.
14. Khan et al. Examining concentration-dependent toxicity of clozapine: role of therapeutic drug monitoring. *J Psychiatr Pract* 2005;11(5):289-301.
15. Pedersen et al. Overdosage of antidepressants: clinical and pharmacokinetic aspects. *Eur J Clin Pharmacol* 1982;23(6):513-21.
16. Power et al. Antidepressant toxicity and the need for identification and concentration monitoring in overdose. *Clin Pharmacokinet* 1995 Sep;29(3):154-71.
17. Reith et al. Features and toxicokinetics of clozapine in overdose. *Ther Drug Monit* 1998;20(1):92-7.

### Verwendete Symbole:

	Temperaturbegrenzung		Bestellnummer
	In-Vitro-Diagnostikum		Zu verwenden mit
	Hersteller		Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
	Chargenbezeichnung		Verwendbar bis
	Enthält Plasmaderivate oder menschliches Blut		Gebrauchsanweisung beachten
	Spezifikationsdatenblatt beachten		Nicht wiederverwenden
	Herstellungskennung		Enthält Material tierischen Ursprungs
	medizinische Substanz		Enthält Material humanen Ursprungs

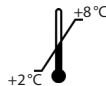


# **IDK<sup>®</sup> Psychotropic Medication 1 LC-MS/MS Kit**

*For the in vitro determination of  
eleven tricyclic antidepressants in serum*

Valid from 2023-03-16

**REF** **KM6310**



**IVD**



**Immundiagnostik AG**, Stubenwald-Allee 8a, 64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: + 49 6251 70190-363

e.mail: [info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

# Table of Contents

<b>1. INTENDED USE</b>	<b>19</b>
<b>2. INTRODUCTION</b>	<b>19</b>
<b>3. MATERIAL SUPPLIED</b>	<b>21</b>
<b>4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED</b>	<b>21</b>
<b>5. PREPARATION, STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS</b>	<b>22</b>
<i>Calibrators and controls</i>	22
<i>Precipitation solution</i>	22
<i>Mobile phases A and B</i>	23
<i>Autosampler washing solution</i>	23
<b>6. STORAGE, STABILITY AND PREPARATION OF SAMPLE</b>	<b>23</b>
<b>7. LC-MS/MS METHOD</b>	<b>24</b>
<b>8. EXAMPLES OF CHROMATOGRAMS</b>	<b>24</b>
<b>9. QUALITY CONTROL</b>	<b>27</b>
<i>Results from LC-MS/MS and reference values</i>	27
<b>10. TEST CHARACTERISTICS</b>	<b>28</b>
<i>Repeatability - intra-day precision</i>	28
<i>Reproducibility - inter-day precision</i>	28
<i>Measuring range with limit of quantification (LOQ)</i>	29
<b>11. PRECAUTIONS</b>	<b>29</b>
<b>12. DISPOSAL</b>	<b>29</b>
<b>13. TECHNICAL HINTS</b>	<b>30</b>
<b>14. GENERAL NOTES ON THE TEST</b>	<b>30</b>
<b>15. REFERENCES</b>	<b>31</b>

## 1. INTENDED USE

The intended use of this device is to aid in the therapeutic drug monitoring (TDM) of several psychotropic medications (i.e. clozapine, norclozapine, nortriptyline, E-10-OH-nortriptyline, Z-10-OH-nortriptyline, amitriptyline, clomipramine, norclomipramine, imipramine, desipramine & zuclopenthixol) by determination of these medications in serum, performed by automated quantitative LC-MS/MS assay technology conducted by laboratory professionals.

## 2. INTRODUCTION

Therapeutic drug monitoring (TDM) is based on the assumption that there is a relationship between blood concentration and clinical effect (therapeutic improvement and adverse effects). It is also assumed that there is a concentration range of the drug that is characterised by maximum efficacy and maximum safety, the "therapeutic window" [1]. This Immundiagnostik LC-MS/MS assay includes amitriptyline, nortriptyline, clomipramine, imipramine and desipramine (including their metabolites) for tricyclic antidepressant (TCAs) as well as the antipsychotic clozapine (including the metabolite norclozapine).

The TCAs amitriptyline, nortriptyline, clomipramine, imipramine and desipramine are used to treat various types of depression, obsessive-compulsive disorder, neuropathic pain, nocturnal enuresis and for the prophylactic treatment of chronic tension headaches and migraine [2–5]. TCAs have marked interindividual pharmacokinetic variability and a narrow therapeutic window. Studies on the relationship between blood concentration and clinical improvement have confirmed this relationship for TCAs [1]. Systematic reviews and meta-analyses provided convincing evidence of a significant association between clinical outcomes and plasma concentrations for the TCAs, which are associated with a high probability of response [1,6–8].

TDM of amitriptyline, nortriptyline, clomipramine, imipramine and desipramine is strongly recommended in the consensus guidelines for TDM in psychiatry [1]. The guidelines state that reported drug concentrations are established and evaluated therapeutic reference ranges. Controlled clinical trials have shown beneficial effects of TDM, and reports on decreased tolerability or intoxications are present. TDM is therefore strongly recommended for dose titration at the start of the treatment, and for special indications, such as in patients with therapeutic failure, adverse events, drug-drug interactions, relevant comorbidities, altered CYP2D6 or CYP2C19 metabolic activity, and if nonadherence is suspected. For the TCAs, reference concentrations are based on literature and an overview of target concentrations can be found in several articles and the consensus guidelines for TDM in psychiatry [1,6-8]. Furthermore, the therapeutic range for amitriptyline and nortriptyline is stated in the summary of product characteristics (SPC) of these drugs [2,3].

Clozapine is indicated in treatment-resistant schizophrenic patients and in schizophrenia patients who have severe adverse reactions to other antipsychotic agents, including atypical antipsychotics. Clozapine is also indicated in psychotic disorders occurring in Parkinson's disease, in cases where standard treatment has failed. TDM of clozapine is advised in the SPC in certain clinical situations, such as when a patient ceases smoking or switches to e-cigarettes (altered metabolism of clozapine can lead to altered clozapine exposure), when concomitant medicines may interact and increase or decrease clozapine blood concentration, where poor clozapine metabolism is suspected, when a patient has pneumonia or other serious infection, and in the event of onset of symptoms suggestive of toxicity (adverse events) [9]. Furthermore, a high inter-patient pharmacokinetic variability of clozapine is seen [10]. This pharmacokinetic variability, in combination with a good correlation between clozapine blood concentrations and efficacy/toxicity makes TDM also useful at the start of clozapine treatment for dose titration, in case of an insufficient response to the treatment, in case of suspected non-adherence, and with the use of high clozapine doses [11–14]. TDM of clozapine is therefore strongly recommended in the consensus guidelines for TDM in psychiatry [1].

Besides for TDM, measuring blood concentrations of TCAs and antipsychotic drugs is helpful in the management of an intoxication with one of these drugs [15–17]. It is known that these drugs have a small therapeutic window and signs of toxicity are not always easily recognized purely on clinical grounds. Therefore, measuring blood concentrations will help to identify intoxications and guide in clinical patient management.

### 3. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No.	Identifier	Kit components	Quantity
KM6310	AUTOWASH	Autosampler wash solution	1 x 1 000 ml
	CAL1–6	Calibrators 1–6; lyophilised (see product specification for concentration)	2 vials (à 500 µl) per level
	CTRL1–3	Controls 1–3; lyophilised (see product specification for concentration)	3 vials (à 500 µl) per level
	PREC	Precipitation solution (contains internal standard)	3 x 100 ml
	MOPHAA	Mobile phase A	1 x 500 ml
	MOPHAB	Mobile phase B	1 x 500 ml

For reorders of single components, please use the catalogue number followed by the identifier without space as product number.

### 4. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

The following accessories are required for the IDK® Psychotropic Medication LC-MS/MS application (not included in the kit):

- Ultrapure water\*
- Precision pipettors and disposable tips to deliver 10–1 000 µl
- Centrifuge 10 000 g (at least)
- Vortex mixer or microtiter plate shaker
- Standard laboratory disposable plastic reagent tubes (e.g. 1.5 ml)
- LC-MS/MS system and LC-MS vials

\*Immundiagnostik AG recommends the use of ultrapure water (water type 1; ISO 3696/LC-MS grade), which is free of undissolved and colloidal ions and organic molecules (free of particles > 0.2 µm) with an electrical conductivity of 0.055 µS/cm at 25 °C (≥ 18.2 MΩ cm).

The following accessories for the IDK® Psychotropic Medication LC-MS/MS application can be ordered separately at Immundiagnostik AG:

- UPLC column (KM6310SP)
- all single components

Please ask for our single component price list. Please contact us for customized inquiries.

## 5. PREPARATION, STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

**Note:** Please unpack the kit components from the transport packaging immediately upon receipt and follow the instructions for storage conditions printed on the product labels. In general, all components should be stored protected from light, dry and at the specified storage temperature.

All components are for LC-MS/MS use only, components may also contain other ingredients than those listed as active ingredients below which might influence the measurement. All declared stabilities are only valid in case of no bacterial contamination.

### *Calibrators and controls*

#### **Handling:**

Always remove the cap and rubber plug carefully (in order to avoid loss of content).

Reconstitute the calibrators and controls as follows:

- Reconstitute each calibrator and control with exactly 500 µl distilled or deionised water and incubate for 15 min at room temperature.
- Next, mix the component thoroughly to make sure that all dry material has dissolved; do not shake too vigorously to avoid foam formation.
- Handle the prepared component as a patient sample during the test procedure.

#### **Stability and storage:**

Before reconstitution: 2–8°C Until expiry date printed on the product label.

After reconstitution: 2–8°C 48 hours

After reconstitution: -20°C 2 weeks

### *Precipitation solution*

#### **Handling:**

The components are liquid and ready for use.

#### **Stability and storage:**

Store at 2–8°C After first opening the component can be used for 4 weeks if closed and stored at 2–8°C.



*Mobile phases A and B***Handling:**

The component is liquid and ready for use.

**Stability and storage:**

Store at 2–8 °C                      After first opening the component can be used for 6 weeks if closed and stored at 2–8 °C or 2 weeks on the UHPLC.

Store at RT                              Before first opening the component can be stored for 12 weeks at room temperature.

*Autosampler washing solution***Handling:**

The components are liquid and ready for use.

**Stability and storage:**

Store at 2–8 °C                      After first opening the component can be used for 6 weeks if closed and stored at 2–8 °C or 2 weeks on the UHPLC.

**6. STORAGE, STABILITY AND PREPARATION OF SAMPLE****Storage and Stability**

Use human serum. Avoid freeze-thaw cycles.

Serum samples can be stored:      3 months at -20 °C.

**Sample preparation**

	1.5 ml reaction tube	96-well plate
1.	Pipet 25 µl sample, CAL or CTRL into one reaction tube respectively well.	
2.	Add 1 000 µl PREC.	
3.	Vortex the tube for at least 30 s.	Shake the plate for 15 min.
4.	Centrifuge for 5 min at 10 000 g (or more).	
5.	Transfer the supernatant into a suitable LC-MS vial or 96-well plate for the LC-MS autosampler.	
6.	Injection in the LC-MS/MS (see application note).	

## 7. LC-MS/MS METHOD

Please refer to the application note or contact [lcms@immundiagnostik.com](mailto:lcms@immundiagnostik.com) for the LC-MS/MS method parameters.

## 8. EXAMPLES OF CHROMATOGRAMS

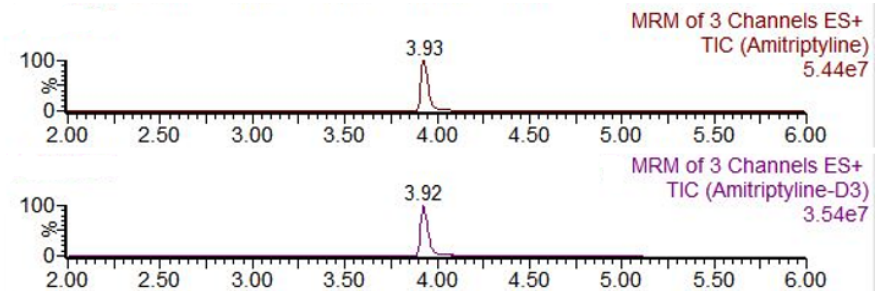


Fig. 1: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top) and internal standard (bottom) of amitriptyline.

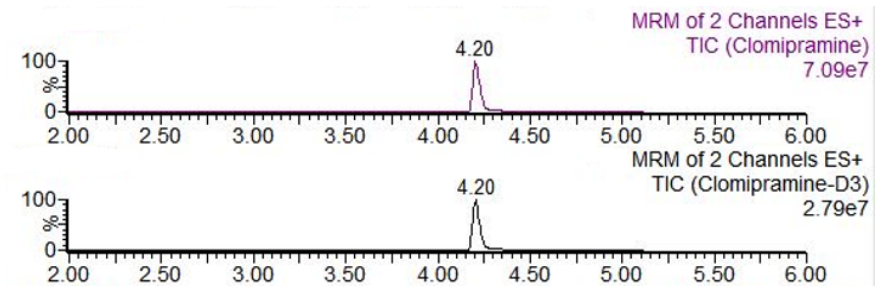


Fig. 2: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top) and internal standard (bottom) of clomipramine.

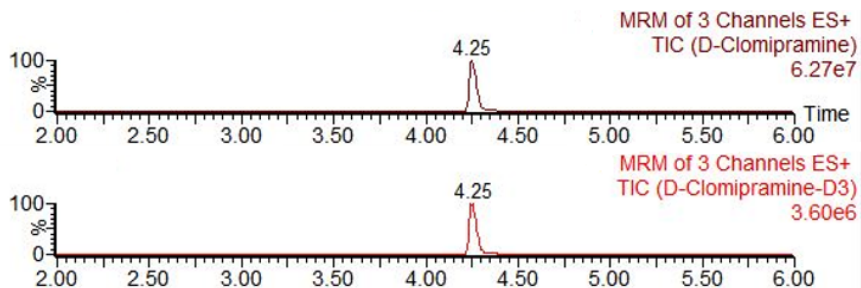


Fig. 3: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top) and internal standard (bottom) of norclomipramine (D-clomipramine).

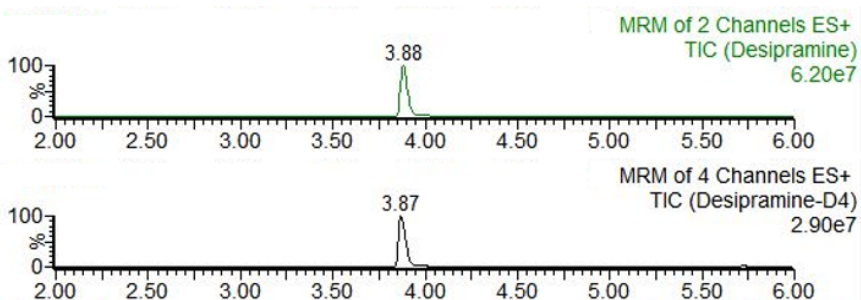


Fig. 4: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top) and internal standard (bottom) of desipramine.

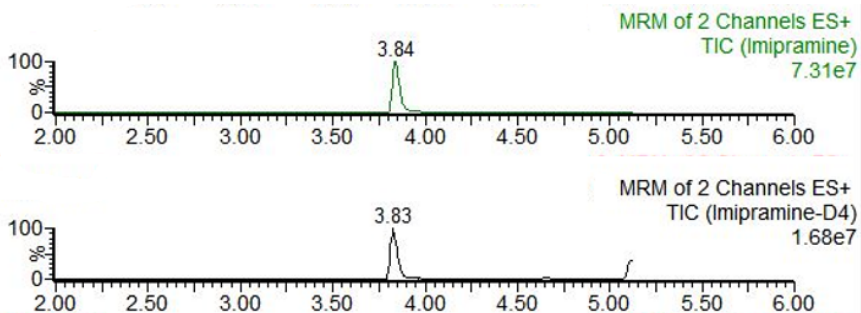


Fig. 5: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top) and internal standard (bottom) of imipramine.

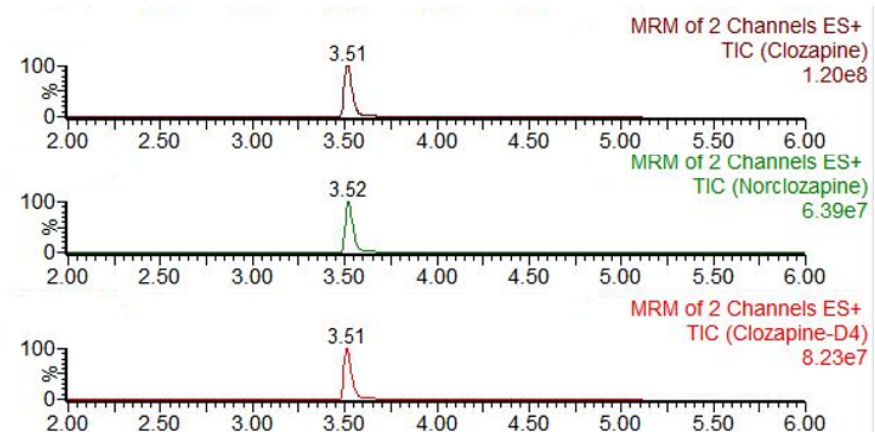


Fig. 6: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top, middle) of clozapine und norclozapine and internal standard (bottom) of clozapine.

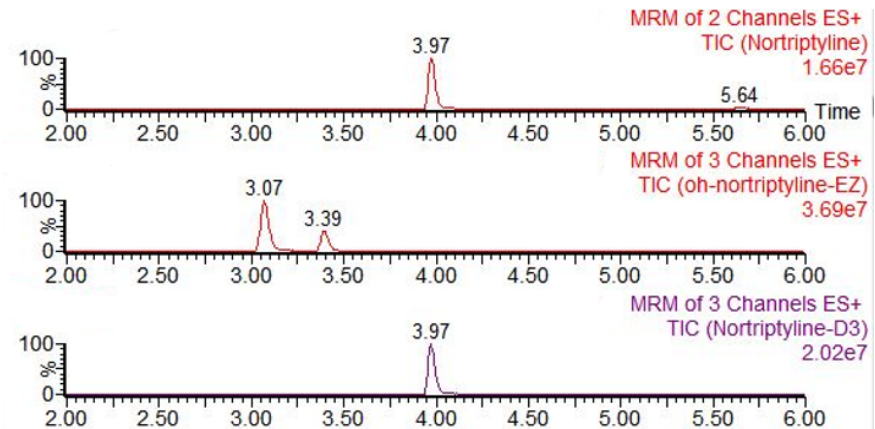


Fig. 7: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top, middle) of nortriptyline und E/Z-10-OH-nortriptyline (E-10-OH-nortriptyline has the shorter retention time) and internal standard (bottom) of nortriptyline.

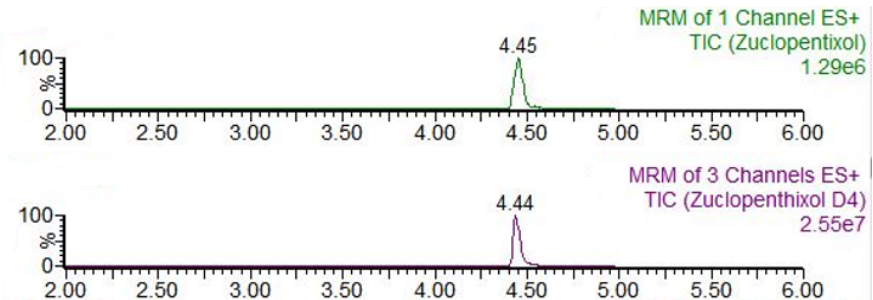


Fig. 8: Chromatogram (recorded with Waters TQS LC-MS/MS) for the analyte (top) and internal standard (bottom) of zuclopenthixol.

## 9. QUALITY CONTROL

Control samples should be analysed with each run. The results of the control samples are used to confirm the accuracy of the method. The test results may not be valid, if one or more values of the quality control sample are outside the acceptable range (see product specification).

### *Results from LC-MS/MS and reference values*

The test gives a specific value for the measurand that must be compared to appropriate reference values to interpret it for the particular patient.

Since the substances measured do not occur naturally in the human body, no classical reference values can be used as with endogenous substances. For pharmaceutical substances, different values apply, such as regular dosage, upper limit and toxicity. These information are (patient-)specific and of technical nature, Immundiagnostik AG refers to the healthcare professional under whose supervision the test is performed.

For interpretation of results, always consult a trained medical professional with expertise in the area of interest for this kit.

Interpretation of the results of this test also depends significantly on the individual characteristics of the patient involved. Immundiagnostik AG recommends taking these into consideration as well.

## 10. TEST CHARACTERISTICS

### *Repeatability - intra-day precision*

Sample	CV		
	Control 1 [%]	Control 3 [%]	Patient [%]
Amitriptyline	3.7	1.8	2.3
Clomipramine	2.0	1.2	1.7
Clozapine	2.4	1.3	1.6
Desipramine	2.8	1.5	2.2
Imipramine	4.1	2.2	3.3
Norclomipramine	2.3	1.2	1.8
Norclozapine	3.3	1.9	2.2
Nortriptyline	6.6	4.6	4.5
E-10-OH-Nortriptyline	4.0	3.5	3.5
Z-10-OH-Nortriptyline	4.1	3.5	5.3
Zuclopenthixol	10.6	6.0	5.8

### *Reproducibility - inter-day precision*

Sample	CV		
	Control 1 [%]	Control 3 [%]	Patient [%]
Amitriptyline	8.0	5.0	4.7
Clomipramine	6.4	4.6	5.9
Clozapine	4.9	4.8	4.7
Desipramine	4.9	4.4	5.5
Imipramine	7.1	6.6	6.0
Norclomipramine	6.8	4.9	5.5
Norclozapine	5.0	4.4	4.7
Nortriptyline	10.6	4.6	5.4
E-10-OH-Nortriptyline	8.1	5.0	6.0
Z-10-OH-Nortriptyline	8.1	5.1	6.1
Zuclopenthixol	13.0	6.8	9.1

*Measuring range with limit of quantification (LOQ)*

Analyte	[µg/l]
Amitriptyline	< 3.66–1 800
Clomipramine	< 6.12–1 400
Clozapine	< 11.05–2 200
Desipramine	< 4.27–1 200
Imipramine	< 4.97–2 000
Norclomipramine	< 4.31–1 175
Norclozapine	< 6.46–2 600
Nortriptyline	5.60–1 250
E-10-OH-Nortriptyline	15.75–1 500
Z-10-OH-Nortriptyline	4.32–288
Zuclopenthixol	TBD–290

**11. PRECAUTIONS**

- Human material used in the kit components was tested and found to be negative for HBsAg and antibody to HIV-1, HIV-2 and HIV p24 Ag, anti-HTLV 1&2 and to HCV and HIV genome as well as syphilis. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- The GHS symbols indicated on the individual components and specifications of the material safety data sheets (available on request from Immundiagnostik AG) must be noted. When working with these reagents, the legal protective precautions must be adhered to.
- The test components contain organic solvents. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.

**12. DISPOSAL**

Autosampler wash solution (AUTOWASH), mobile phase A (MOPHAA), mobile phase B (MOPHAB) and precipitation reagent (PREC) must be disposed as non-halogenated solvents.

Calibrators (CAL1–6) and controls (CTRL1–3) should be disposed as potentially infectious material in accordance with local regulations.

### 13. TECHNICAL HINTS

- Do not mix different lot numbers of any kit component.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.
- Plugs and caps of different reagents should not be swapped.
- The individual components of the kit are designed for a maximum of the specified number of test runs. Any part of the components that has already been used must not be reused, but must be disposed of properly in accordance with local regulations.

### 14. GENERAL NOTES ON THE TEST

- This assay was produced and distributed according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- IDK® is a trademark of Immundiagnostik AG.
- All reagents in the kit package are for *in vitro* diagnostic use only.
- The guidelines for medical laboratories should be followed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Serious incidents are to be reported to Immundiagnostik AG and the national regulatory authorities.
- Please contact Immundiagnostik AG if one or more components of the kit are damaged, missing (see material supplied) or precipitates are visible in the ready-to-use solutions.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be lodged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG together with a written complaint.



















## 15. REFERENCES

1. Hiemke et al. AGNP Consensus Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring in Psychiatry: Update 2011. *Pharmacopsychiatry* 2011;44(6):195-235.
2. Summary of Product Characteristics Amitriptyline. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
3. Summary of Product Characteristics Nortriptyline. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
4. Summary of Product Characteristics Imipramine. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
5. Summary of Product Characteristics Clomipramine. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
6. Ulrich et al. Comprehensive survey of the relationship between serum concentration and therapeutic effect of amitriptyline in depression. *Clin Pharmacokinet* 2002;41(11):853-76.
7. Mavissakalian et al. Clomipramine in obsessive-compulsive disorder: clinical response and plasma levels. *J Clin Psychopharmacol* 1990;10(4):261-8.
8. Gex-Fabry et al. Clomipramine concentration as a predictor of delayed response: a naturalistic study. *Eur J Clin Pharmacol* 1999;54(12):895-902.
9. Summary of Product Characteristics Zaponex. Available via: <https://www.ema.europa.eu>.
10. Potkin et al. Plasma clozapine concentrations predict clinical response in treatment-resistant schizophrenia. *J Clin Psychiatry* 1994;55 Suppl B:133-6.
11. Perry et al. Clozapine and norclozapine plasma concentrations and clinical response of treatment-refractory schizophrenic patients. *Am J Psychiatry* 1991;148(2):231-5.
12. Couchman et al. Plasma clozapine, norclozapine, and the clozapine:norclozapine ratio in relation to prescribed dose and other factors: data from a therapeutic drug monitoring service, 1993-2007. *Ther Drug Monit* 2010;32(4):438-47.
13. Mauri et al. Clinical pharmacokinetics of atypical antipsychotics: a critical review of the relationship between plasma concentrations and clinical response. *Clin Pharmacokinet* 2007;46(5):359-88.
14. Khan et al. Examining concentration-dependent toxicity of clozapine: role of therapeutic drug monitoring. *J Psychiatr Pract* 2005;11(5):289-301.

15. Pedersen et al. Overdosage of antidepressants: clinical and pharmacokinetic aspects. *Eur J Clin Pharmacol* 1982;23(6):513-21.
16. Power et al. Antidepressant toxicity and the need for identification and concentration monitoring in overdose. *Clin Pharmacokinet* 1995 Sep;29(3):154-71.
17. Reith et al. Features and toxicokinetics of clozapine in overdose. *Ther Drug Monit* 1998;20(1):92-7.

**Used symbols:**

	Temperature limitation		Catalogue number
	In Vitro Diagnostic Medical Device		To be used with
	Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Lot number		Use by
	Contains plasma derivatives or human blood		Consult instructions for use
	Consult specification data sheet		Do not re-use
	Unique Device Identification		Contains material of animal origin
	Medicinal substance		Contains material of human origin



## **Immundiagnostik AG**

Stubenwald-Allee 8a  
64625 Bensheim, Germany

Tel.: +49 6251 70190-0

Fax: +49 6251 70190-363

[info@immundiagnostik.com](mailto:info@immundiagnostik.com)

[www.immundiagnostik.com](http://www.immundiagnostik.com)

