

Evaluación de un nuevo método espectrométrico para la medición de la concentración de ion litio en suero

B. García García, A. Gómez del Campo Dechado, M. Gilarranz Suárez, F. Arribas Martín

Resumen

Hemos evaluado el nuevo análisis espectrométrico para la medición cuantitativa de Ion Litio desarrollado por Dade Behring para el analizador de química clínica Dimension® RxL. El análisis se lleva a cabo de forma totalmente automática en el equipo, con un intervalo analítico de 0,25 a 5 mmol/L. Los coeficientes de variación obtenidos fueron inferiores a 6,5% en todos los casos. El procedimiento evaluado es lineal dentro del intervalo de medida y no presenta interferencias por turbidez, hemólisis o bilirrubina. La comparación con un método de espectrometría de emisión atómica de llama con estándar interno de cesio (IL 943, Izasa) mostró un coeficiente de correlación de 0,98, apreciándose la existencia de errores sistemáticos constantes y proporcionales que, sin embargo, no fueron clínicamente significativos. En conclusión, este nuevo método espectrométrico puede considerarse un procedimiento adecuado para la medida rápida, fiable y precisa de litio en suero por lo que es recomendable su empleo tanto en laboratorios de rutina como de urgencia.

Palabras clave: litio, método espectrométrico, espectrometría de emisión atómica de llama, evaluación.

Summary. Evaluation of a new spectrometric method for the measurement of Lithium Ion concentration in serum

We have evaluated a new spectrometric assay for the quantitative measurement of lithium developed by Dade Behring on the Dimension® RxL clinical chemistry analyzer. The assay is fully automated, with an analytical range from 0.25 to 5 mmol/L. Coefficients of variation were $\leq 6.5\%$ in all cases. The assay is linear over the analytical range and has no significant interference due to turbidity, haemolysis or bilirubin. Comparison of the present method with a spectrometry of flame atomic emission with cesium internal standard (IL 943, Instrumentation Laboratory) showed a correlation coefficient of 0.98, with statistical systematic and proportional errors that were nevertheless considered of no clinical significance. In conclusion, we consider this new spectrometric procedure as a reliable method for serum lithium measurement, with a wide analytical range and a high sensitivity, so we think it is a suitable method for routine or emergency laboratories.

Key words: lithium, spectrometric assay, spectrometry of flame atomic emission, evaluation.

INTRODUCCIÓN

Aunque fue descubierto en 1817, hasta 1949 no empezó a utilizarse el ion litio en el tratamiento de la excitación psicótica. El tratamiento con ion litio debe ser monitorizado por su estrecho intervalo terapéutico, su completa absorción, la ausencia de fijación a proteínas y de metabolización y la existencia de una única vía de eliminación (1).

Los métodos de medición de ion litio incluyen Espectroscopía de Absorción Atómica (2), Espectrometría de Emisión Atómica de Llama (3), Electrodo Selectivo (2) y métodos colorimétricos (4-8).

El objeto del presente estudio es la evaluación de un nuevo método colorimétrico para ion Litio en el instrumento de química clínica Dimension® RxL.

MATERIAL Y METODOS

Muestras

Las muestras de suero de pacientes se mantuvieron refrigeradas a 4° C si se analizaban dentro de los tres días siguientes a su obtención, mientras que las demás se congelaron a -20° C

hasta el momento de su análisis. Las muestras congeladas sólo se sometieron a un ciclo de congelación-descongelación.

Instrumentación

Las muestras se procesaron en el analizador de química clínica Dimension® RxL (Dade International Inc., Newark, DE, USA), que permite procesar volúmenes de actividad medios y altos y que integra mediciones espectrofotométricas y de inmunoanálisis heterogéneo, por lo que ofrece una amplia disponibilidad de técnicas.

Para el estudio de inexactitud relativa se utilizó un espectrómetro de emisión atómica de llama con estándar interno de Cesio, IL 943 (Instrumentation Laboratory, Lexington, MA, USA).

Reactivos

Se emplearon reactivos «flex» de Litio para el sistema de química clínica Dimension ref. DF132, Dade Behring. Como calibrador se empleó el calibrador de Fármacos ref. DC228, y como material de control Monitrol 1 y 2 ref. B5150, todos ellos procedentes del mismo fabricante y elaborados con una matriz de sueros humanos. Asimismo, para el de nivel control bajo se empleó una mezcla de sueros a la que se le ha añadido una cantidad conocida de ion Litio.

Procedimiento de análisis

El sistema Dimension realiza automáticamente el muestreo, dispensación de reactivos, mezclado, procesado e impresión de resultados.

Condiciones de la prueba:

Volumen de muestra: 10 μL , Volumen de reactivo 1: 240 μL , Volumen de reactivo 2: 100 μL , Volumen de reactivo 3: 240 μL , Temperatura de la prueba: 37 $^{\circ}\text{C}$, Longitudes de onda: 540 y 700 nm. Tipo de medición: punto final bicromático.

Principio del método

El método espectrométrico para la medida de ion litio en el analizador Dimension[®] RxL emplea un compuesto patentado, el 7- Nitro- 2, 12- dicarboxil- 16, 17- dihidro- 5H, 15H- dibenzo dixatetraacicotetradecina (Tintura de Litio), que reacciona con el ion litio en una disolución alcalina de agua y dimetil-sulfóxido para formar un complejo binario no covalente:

$\text{Li}^+ + \text{Tintura de Litio} \rightarrow \text{Complejo Tintura-Li}$ (Absorbe a 540 nm)

El cambio en la absorbancia a 540 nm debido a la formación de este complejo binario no covalente es directamente proporcional a la concentración de ion litio en la muestra y se mide utilizando una técnica a punto final bicromática (540 y 700 nm).

Estudio de repetibilidad

La determinación de la imprecisión se realizó para tres concentraciones diferentes de Litio. Se empleó tanto el reactivo control proporcionado por el fabricante como una mezcla de sueros de pacientes. En el estudio intraserial, se analizaron por duplicado veinte alícuotas en una misma serie analítica. La repetibilidad interserial se evaluó analizando alícuotas de los mismos especímenes durante veinte días consecutivos.

Intervalo analítico

Para la confirmación del intervalo analítico se utilizaron mezclas de sueros de pacientes con valores bajos, medios y altos. Las diluciones oscilaron entre 0,22 mmol/L y 4,8 mmol/L.

Interferencias analíticas

Se estudió el efecto de los tres potenciales interferentes más comunes sobre la medición de Litio: triglicéridos, bilirrubina y hemoglobina. Para cada interferente se mezclaron tres muestras que contenían cantidades constantes del mismo con otros tantos especímenes que contenían diferentes cantidades de Litio en proporciones constantes, realizándose 15 medidas para cada una de las series.

En concreto, se prepararon las siguientes mezclas y disoluciones.

1. Una solución primaria de cada interferente:

a) Solución con una concentración de Bilirrubina de 855 $\mu\text{mol/L}$

b) Para el estudio de interferencias debidas a hemoglobina la disolución del interferente se preparó a partir de un hemolizado obtenido de una muestra de sangre con heparina sódica, de un donante sano. Se determinó la concentración de hemoglobina en el hemolizado. Para preparar la disolución interferente se ajustó su concentración hasta 36 g/L.

c) Para la interferencia por turbidez se utilizó una solución primaria con una concentración de triglicéridos de 52 mmol/L.

2. Un suero procedente de un paciente con intoxicación aguda por litio, y una concentración de ion litio de 4,8 mmol/L.

3. Se realizaron diferentes disoluciones de muestra base con los interferentes, realizando una sobrecarga del suero con distintos volúmenes de la disolución interferente para conseguir cuatro disoluciones de distinta concentración. La máxima concentración de bilirrubina fue de 427,5 $\mu\text{mol/L}$, de hemoglobina de 18 g/L y de triglicéridos de 26 mmol/L. La concentración de ion litio en las disoluciones incluía el intervalo de decisión clínica.

4. Se procesaron 15 alícuotas del espécimen problema con cada interferente, dentro de una misma serie analítica y con secuencia aleatoria.

Análisis estadístico

La linealidad del método se evaluó mediante regresión lineal, entre los valores de Litio teóricos y los obtenidos experimentalmente. Se evaluó un modelo polinómico de segundo grado, que no ofreció ninguna mejora significativa respecto al modelo lineal. De forma similar a la llevada a cabo para el estudio de linealidad, la interferencia analítica se estudió, para cada potencial interferente evaluado, mediante regresión lineal entre los valores obtenidos y los teóricamente esperados para cada dilución realizada (9,10). La comparación entre métodos se estudió mediante el análisis de regresión no paramétrico de Passing y Bablok (11).

RESULTADOS

Estudio de imprecisión

En el estudio de imprecisión intraserial los coeficientes de variación fueron inferiores a 4,4% para los tres niveles estudiados. En el estudio interserial, los coeficientes de variación fueron inferiores a 6,5 % en todos los casos. Los resultados obtenidos se exponen en la Tabla I.

Intervalo analítico

El intervalo de medida se establece entre 0,25 y 5 mmol/L. Las muestras con concentraciones superiores a 5 mmol/L deben diluirse con suero libre de fármaco, y las concentraciones inferiores a 0,25 mmol/L, deben informarse como inferior a 0,25 mmol/L.

El estudio de regresión lineal entre los valores de Litio experimentales y teóricos, mostró unos coeficientes de corre-

Tabla I. Estudio de imprecisión

Nivel	Intraserial			Interserial		
	\bar{x}	s	CV	\bar{x}	s	CV
1	0,58	0,024	4,4	0,56	0,035	6,2
2	1,19	0,03	2,5	1,16	0,05	4,3
3	1,88	0,03	1,6	1,84	0,10	5,4

Tabla II. Estudio de correlación entre el método evaluado y espectrometría de emisión atómica de llama

Método x	Método y	n	a	IC a (95%)	b	IC b (95%)	r ²
Espectrometría de emisión atómica de llama	Espectrometría Dimension®	75	1,0887	(1,0322)–(1,1452)	–0,1022	(–0,1541)–(0,05021)	0,98

n: n° de muestras; a: pendiente; b: ordenada en el origen; IC : intervalo de confianza (95% de probabilidad)

lación ($r \geq 0,99$) en todos los casos. Una regresión cuadrática no supuso una mejora significativa de ajuste a los datos teóricos, dando como resultado para el coeficiente en χ^2 , un valor estadísticamente no diferente de cero (IC 95%: [(-0,065)–(0,002)]).

Estudio de interferencias

Concentraciones de triglicérido hasta 26 mmol/L, bilirrubina hasta 427 $\mu\text{mol/L}$ y hemoglobina hasta 18 g/L no afectaron a la medición de ion litio por el método estudiado.

Análisis de la intercambiabilidad de resultados

Los resultados del estudio comparativo entre el procedimiento evaluado (y) y la espectrometría de emisión atómica de llama (x) se muestran en la tabla II y la figura 1. Se evidenciaron errores sistemáticos constantes y proporcionales significativos, ya que el 1 no está incluido en el intervalo de confianza de la pendiente, ni el 0 en el de la ordenada en el origen.

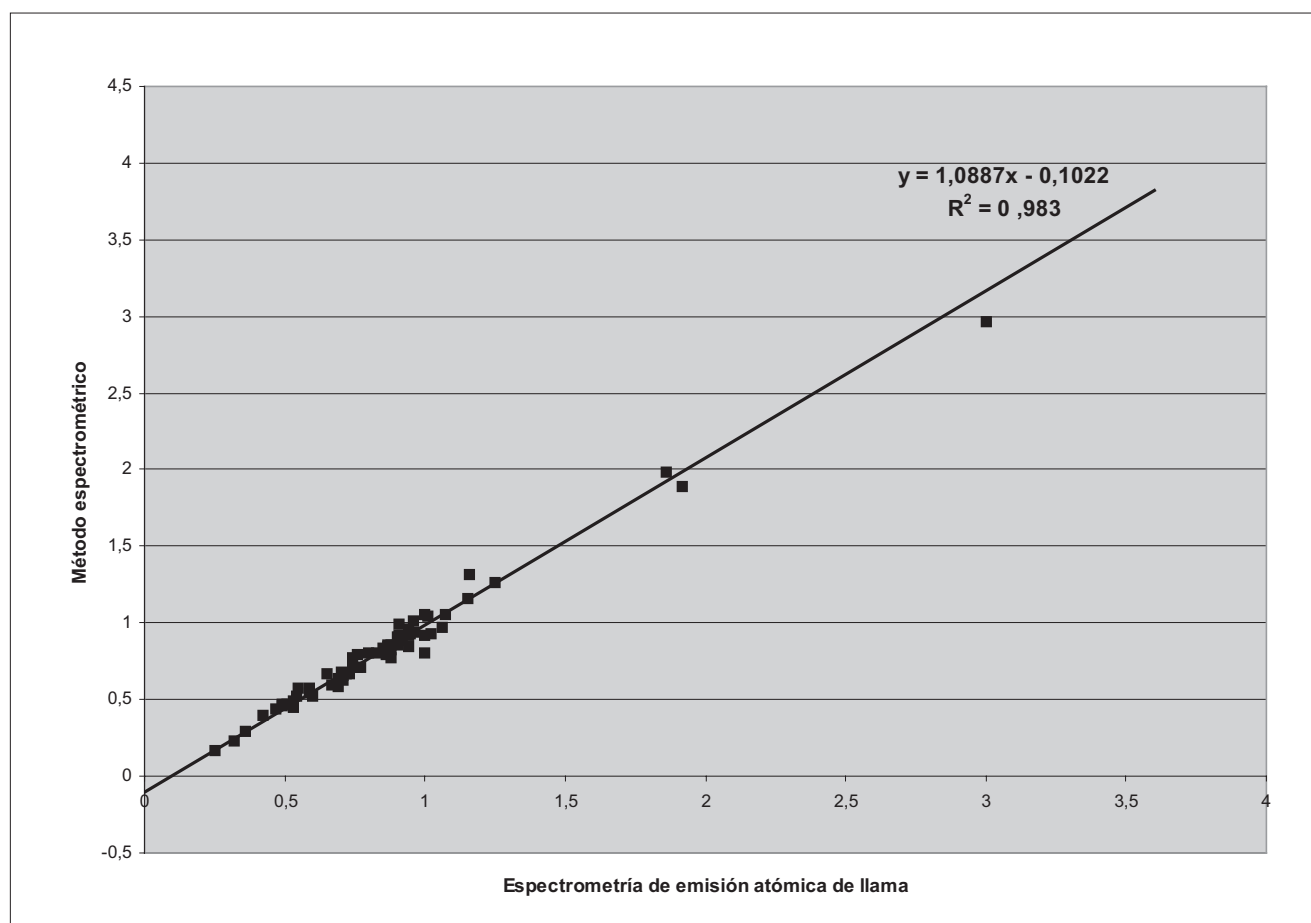
Discusión

En el presente trabajo se ha evaluado un nuevo análisis espectrométrico para la medición de ion Litio en el instrumento de química clínica Dimension® RxL (Dade Behring).

La imprecisión del método resultó adecuada, con coeficientes de variación $\leq 6,2\%$ en todo el intervalo analítico estudiado.

El procedimiento evaluado presenta una buena linealidad y sensibilidad, permitiendo detectar concentraciones de Litio hasta 0,25 mmol/L y no presenta interferencias significativas en muestras turbias (lipémicas), hemolizadas o ictericas.

Los resultados de Litio obtenidos por el método evaluado correlacionan ($r^2 = 0,98$) con los valores encontrados en espectrometría de emisión atómica de llama (IL 943), evidenciándose un error sistemático constante así como un error proporcional significativo sin relevancia clínica, ya que para un valor de decisión de 1,5 mmol/L el error relativo estimado es de un 2,05%.

**Figura 1** Análisis de la intercambiabilidad de resultados

En conclusión, el método evaluado permite la medida rápida, fiable y precisa de ion Litio con un amplio intervalo analítico y una alta sensibilidad analítica, por lo que es recomendable su empleo tanto en laboratorios de rutina como de urgencia.

Correspondencia:
Blanca García García.
Hospital Ntra. Sra. de Sonsoles.
Carretera de Madrid Km. 109
05004 Ávila
mgarcia@hnss.insalud.es

BIBLIOGRAFIA

1. González-Sastre F. Monitorización del tratamiento farmacológico. En: *Bioquímica Clínica*, Barcelona, 1994, pp 689-691.
2. Sampson M, Ruddel M, Elin R. Lithium determinations evaluated in eight analyzers. *Clin Chem*. 1994; 40: 869-872.
3. Lippmann S, Regan W, Manshadi M. Plasma lithium stability and comparison of flame photometry and atomic absorption spectrophotometry analysis. *Am J Psychiatry* 1981; 138: 1375-1377.
4. Frezzotti A, Margarucci Gambini AM, Coppa G, De Sio G. An evaluation of the Ektachem serum lithium method and comparison with flame emission spectrometry. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56: 591-596.
5. Gorham JD, Walton FG, McClellan AC, Scott MG. Evaluation of a new colorimetric assay for serum lithium. *Ther Drug Monit* 1994; 16:277-280.
6. Bodman V, Arter T, Masiewicz F, Dychko D, Schaeffer J, Winterkorn R. Development of the Kodak Ektachem clinical chemistry slide for lithium. *Clin Chem* 1992; 38: 1049.
7. Chapoteau Czech BP, Zazulak W and Kumar A. First practical colorimetric assay of lithium in serum. *Clin Chem* 1992; 38: 1654-1657.
8. Linder M W, Keck PE Jr. Standards of Laboratory practice: antidepressant drug monitoring. *Clin Chem* 1998; 44:1073-1084.
9. Fraser CG, Petersen PH, Ricós C, Haeckel R. Proposed quality specifications for the imprecision and inaccuracy of analytical systems for clinical chemistry. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992; 30: 311-317.
10. College of American Pathologists. XIIth Aspen Conference 1998. Evaluation of proficiency testing results for quantitative methods in relation of clinical usefulness. *Arch Pathol Lab Med* 1998; 112: 313-474.
11. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. *J Clin Chem Clin Biochem* 1983; 21: 709-20.