

Evaluación del método CEDIA® para la determinación de la concentración sérica de fenitoína, fenobarbital y teofilina en el analizador BM/Hitachi 717

O. Díez Gibert, M.J. Castiñeiras Lacambra, X. Fuentes Arderiu, R. Mas Serra*

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la calidad analítica de la determinación de la concentración de los fármacos fenitoína, fenobarbital y teofilina en suero mediante el método CEDIA® en el analizador BM/Hitachi 717.

Se ha evaluado la imprecisión intraserial y la interserial, el intervalo analítico, el límite de detección, la inexactitud relativa y la transferibilidad de los resultados, comparados con los obtenidos por un método de fluorescencia de luz polarizada.

Los resultados obtenidos muestran que el método CEDIA® permite la determinación rutinaria de dichos fármacos, con un aumento de practicabilidad, al poseer una función de calibración lineal.

Summary

The purpose of this study is to evaluate the analytical performance of concentration measurements of phenytoin, phenobarbital and theophylline in serum, using the CEDIA® method on the BM/Hitachi 717 analyzer.

We have evaluated within-run and between-run imprecision, analytical range, limit of detection, relative inaccuracy and transferability of results compared to a fluorescence polarized immunoassay method.

The results obtained show that the CEDIA® method allows the determination under routine conditions of the above mentioned drugs, increasing practicability, due to its linear calibration function.

Introducción

La determinación de la concentración sérica de fármacos para el seguimiento de la terapéutica farmacológica requiere procedimientos rápidos y automatizados. El método CEDIA® (*Clone Enzyme-Donor Receptor Immunoassay*), desarrollado por Microgenics Corporation (1), es un nuevo método de inmunoanálisis enzimático homogéneo que ha sido adaptado para su utilización en analizadores automáticos por Boehringer Mannheim (2).

En el presente trabajo se han evaluado las características analíticas del método CEDIA® para la determinación de la concentración de fenitoína, fenobarbital y teofilina en suero, en un analizador BM/Hitachi 717. La evaluación se ha llevado a cabo siguiendo las directrices de la ECCLS (3,4).

Material y métodos

Instrumentación

Todas las determinaciones se han realizado con un analizador automático BM/Hitachi 717 (Boehringer Mannheim). En el estudio de la inexactitud relativa respecto al método inmunoquímico de fluorescencia de luz polarizada se ha utilizado un analizador TDx® Analyzer (Abbott).

Reactivos

Se han utilizado los siguientes reactivos: CEDIA® Phenytoin (ref: 1299921), CEDIA® Phenobarbital (ref: 1299930), CEDIA® Theophylline (ref: 1299883) (Boehringer Mannheim), adaptados al analizador Hitachi 717 por

Boehringer Mannheim. En el estudio de transferibilidad se han usado los reactivos TDx® Phenytoin (ref: 9507-60), TDx® Phenobarbital (ref: 9500-60) y TDx® Theophylline (ref: 9517-60) de Abbott.

Los materiales de calibración estaban incluidos en el equipo de reactivos.

Especímenes

Para el análisis de la imprecisión se ha utilizado el suero de control Lyphocheck® (ref: C-455-I, II, III) (Bio-Rad). En el estudio de inexactitud respecto al método de TDx® se han utilizado 125 especímenes séricos procedentes de pacientes tratados con cada uno de los fármacos.

Para la validación de los resultados obtenidos durante el estudio se ha utilizado el material de control Precinorm® TDM (ref: 1299336) (Boehringer Mannheim).

Análisis estadístico

Se ha utilizado la regresión lineal no paramétrica de Passing y Bablok (5).

Procedimiento

Las determinaciones por el método CEDIA® en el analizador BM/Hitachi 717 y por fluorescencia de luz polarizada en el analizador TDx® se han efectuado siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Límite de detección

El límite de detección se ha calculado como: $\bar{x}_0 + 3 s_{ab}$, siendo \bar{x}_0 la concentración media y s_{ab} la desviación estándar, obtenidas con 20 determinaciones del calibrador de concentración cero a partir de 20 series analíticas distintas.

Intervalo analítico

El estudio del intervalo analítico se ha efectuado mezclando el calibrador de mayor concentración (158,4 $\mu\text{mol/L}$ para la fenitoína, 346,5 $\mu\text{mol/L}$ para el fenobarbital y 227,0

Servei de Bioquímica Clínica, Hospital de Bellvitge, «Prínceps d'Espanya», L'Hospitalet de Llobregat.
*Boehringer Mannheim España, Barcelona.
Recibido: 22-5-92
Aceptado: 9-10-92

Tabla I. Intervalo terapéutico

Magnitud	
Srm-Fenitoína, <i>c</i>	39,6 - 79,2 $\mu\text{mol/L}$
Srm-Fenobarbital, <i>c</i>	64,7 - 172,4 $\mu\text{mol/L}$
Srm-Teofilina, <i>c</i>	55,5 - 111,0 $\mu\text{mol/L}$

Srm: suero; *c*: concentración de sustancia.

Tabla II. Límite de detección

Magnitud	
Srm-Fenitoína, <i>c</i>	4,3 $\mu\text{mol/L}$
Srm-Fenobarbital, <i>c</i>	3,4 $\mu\text{mol/L}$
Srm-Teofilina, <i>c</i>	5,5 $\mu\text{mol/L}$

Srm: suero; *c*: concentración de sustancia.

Tabla III. Intervalo analítico

Magnitud	
Srm-Fenitoína, <i>c</i>	4,3 - 158,4 $\mu\text{mol/L}$
Srm-Fenobarbital, <i>c</i>	3,4 - 346,5 $\mu\text{mol/L}$
Srm-Teofilina, <i>c</i>	5,5 - 227,0 $\mu\text{mol/L}$

Srm: suero; *c*: concentración de sustancia.

$\mu\text{mol/L}$ para la teofilina) con el de concentración cero en 11 proporciones distintas. Se ha realizado la inspección visual de los resultados representados gráficamente.

Imprecisión

Su estudio se ha llevado a cabo con 3 concentraciones distintas del material de control Lyphocheck® (Bio-Rad). La imprecisión intraserial se ha calculado a partir de 20 determinaciones de cada material de control en una misma serie analítica. La imprecisión interserial se ha calculado a partir de una determinación diaria de cada material de control durante 20 días.

Tabla IV. Imprecisión intraserial e interserial

	Srm-Fenitoína, <i>c</i>			
\bar{x} ($\mu\text{mol/L}$)	31,3	62,8	113,7	
CV_w (%)	2,5	1,8	2,1	$n = 20$
CV_b (%)	6,1	5,1	5,7	$n = 20$
	Srm-Fenobarbital, <i>c</i>			
\bar{x} ($\mu\text{mol/L}$)	40,9	105,6	233,8	
CV_w (%)	3,1	2,0	2,4	$n = 20$
CV_b (%)	5,1	4,0	3,5	$n = 20$
	Srm-Teofilina, <i>c</i>			
\bar{x} ($\mu\text{mol/L}$)	29,4	94,9	173,7	
CV_w (%)	4,4	1,6	2,9	$n = 20$
CV_b (%)	12,2	5,6	4,8	$n = 20$

CV_w : coeficiente de variación intraserial.

CV_b : coeficiente de variación interserial.

Srm: suero; *c*: concentración de sustancia.

Inexactitud relativa

Para determinar la inexactitud relativa respecto al método de TDx® se han analizado por ambos métodos 125 especímenes de pacientes tratados con el fármaco a estudiar. En cada caso se ha realizado el cálculo de la ecuación de regresión lineal no paramétrica de Passing y Bablok ($X = \text{TDx}^\circ$, $Y = \text{CEDIA}^\circ$).

Resultados y discusión

En las tres magnitudes estudiadas los valores del límite de detección han sido muy inferiores al límite inferior del intervalo terapéutico considerado, que se expone en la tabla I. Los valores calculados del límite de detección se expresan en la tabla II.

Los resultados obtenidos en el estudio del intervalo analítico se han valorado mediante inspección visual, considerándose satisfactorios para los tres fármacos. En la tabla III se exponen los valores correspondientes al intervalo de linealidad, que supera ampliamente el intervalo terapéutico. El límite inferior de linealidad se ha ajustado hasta el valor del límite de detección.

Los resultados de la imprecisión intraserial e interserial se muestran en la tabla IV, expresados como coeficientes de variación intraserial (CV_w) e interserial (CV_b) para cada magnitud medida. Los coeficientes de variación intraserial en las tres magnitudes han sido inferiores al 5%, mientras que los de variación interserial no han superado el 6,1% excepto para la menor concentración estudiada de teofilina.

Los coeficientes de variación interserial correspondientes a las concentraciones pertenecientes al intervalo terapéutico de cada fármaco han sido equiparables a los calculados según el criterio de imprecisión analítica máxima admisible de Fraser (6), que toma en consideración los valores del tiempo entre dosis (T) y de la semivida del fármaco ($t_{1/2}$). Los valores de T y $t_{1/2}$ usados han sido los habituales en la práctica terapéutica. La imprecisión obtenida en el fenobarbital ha sido superior a la deseable según el criterio propuesto por Fraser, que proporciona un valor inalcanzable en la actualidad. No obstante, el coeficiente de variación obtenido ha sido menor o igual al presentado por el 25% de los laboratorios con menor imprecisión, según los datos de un programa de evaluación externa de la calidad (7). En el caso

Tabla V. Inexactitud relativa

Magnitud	<i>a</i>	<i>b</i>
Srm-Fenitoína, <i>c</i> (<i>n</i> = 125) CEDIA® = -1,78 + 1,01 TDx®	[-2,700; -1,362]	[0,989; 1,038]
Srm-Fenobarbital, <i>c</i> (<i>n</i> = 125) CEDIA® = -4,09 + 0,96 TDx®	[-6,305; -0,193]	[0,934; 0,986]
Srm-Teofilina, <i>c</i> (<i>n</i> = 125) CEDIA® = -0,77 + 0,92 TDx®	[-2,192; 0,000]	[0,887; 0,950]

CEDIA® = $a + b$ TDx®: ecuación de la recta.

Los resultados de la ordenada en el origen (*a*) y de la pendiente (*b*) están expresados en intervalos de confianza ($\alpha = 0,05$).

Srm: suero; *c*: concentración de sustancia.

de la fenitoína y de la teofilina, los coeficientes de variación correspondientes al intervalo terapéutico han sido menores que los obtenidos por el 25% de los laboratorios con mayor imprecisión.

En la tabla V se muestran los resultados correspondientes al estudio de la inexactitud relativa del método CEDIA® respecto al método de fluorescencia de luz polarizada del sistema TDx®. Se han encontrado diferencias constantes en la determinación de fenitoína y fenobarbital, así como diferencias proporcionales en la determinación de fenobarbital y teofilina entre los resultados obtenidos por ambos métodos, por lo que no ha existido transferibilidad entre ellos.

El método CEDIA® adaptado a los analizadores BM/Hitachi permite la determinación rutinaria de los fármacos mencionados y aumenta la practicabilidad de este tipo de análisis al poseer una función de calibración lineal y requerir, por consiguiente, sólo dos calibradores.

Bibliografía

- Henderson DR, Friedman SB, Jeffrey DH, Manning WB, Zoccoli MA. CEDIA™, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem 1986; 32: 1.637-1.641.
- Coty WA, Khanna PL. CEDIA Una nueva tecnología para el inmunoanálisis homogéneo. Quim Clin 1991; 10: 83-92.
- European Committee for Clinical Laboratory Standards. Guidelines for the evaluation of analyzers in Clinical Chemistry. ECCLS Document. Berlin: Beuth Verlag, 1986.
- European Committee for Clinical Laboratory Standards. Guidelines for a user laboratory to evaluate and select a kit for its own use. ECCLS Document. Berlin: Beuth Verlag, 1986.
- Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from the different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in Clinical Chemistry, Part I. J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 709-720.
- Fraser CG. Desirable standards of performance for therapeutic drug monitoring. Clin Chem 1987; 33: 387-389.
- Blanco-Font A, Fuentes-Arderiu X. State of the art of the metrological quality of analytical methods for drug assay. En: Sunshine I. Recent Developments in Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology. New York: Marcel Dekker, 1991: 649-654.