



Opgemerkt

FENYTOINE IN SERUM.

Voor de bepaling van fenytoïne in serum wordt veelal gebruik gemaakt van een immunoassay of een HPLC-methode. De methodekeuze hangt af van de beschikbare apparatuur, de personele bezetting en/of de urgentie van de aanvraag.

Nadat in een patiëntmonster, dat abusievelijk met beide methoden bepaald was, de TDx waarde een factor twee hoger uitkwam dan de HPLC waarde werd de correlatie tussen de TDx en de HPLC-SP methode nader bestudeerd.

KKGT-test	theoretische waarde mg/l	gem. waarde mg/l HPLC-SP (n=10)	gem. waarde mg/l TDx (n=30)
H 90	3,41	3,44	3,48
B 90	3,41	3,61	3,58
C 91	3,94	4,02	4,10
F 90	8,19	8,27	8,52
A 91	9,45	9,73	9,54
A 92	9,83	9,63	10,12
G 90	11,50	11,50	11,84
B 91	15,75	15,59	15,75
A 90	16,89	16,38	16,72
D 90	16,89	16,72	16,72
E 91	20,57	20,16	20,16
E 90	23,37	23,37	22,67
C 90	28,73	28,73	28,15
D 91	29,45	29,45	28,86
B 92	33,92	33,92	33,92

Tabel 1: resultaten fenytoïne KKGT-testen.

Volgens de specificatie van de fenytoïne TDx-bepaling is er een goede correlatie tussen de TDx waarden en de HPLC waarden van patiëntmonsters ($n=26$, $Y = 1,009X + 0,085$ en $r=0,992$). De specificatie meldt een crossreactiviteit van 10-5% voor HPPH-concentraties tussen de 10 en

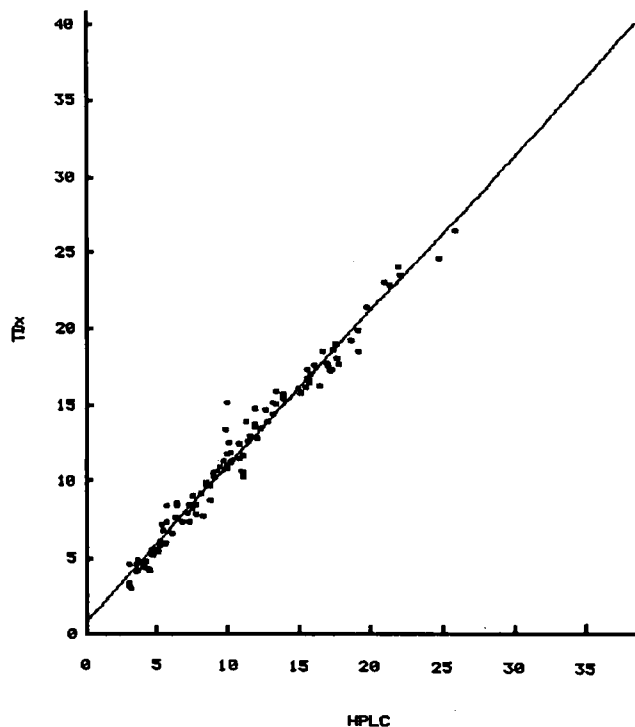
100 mg/l. HPPH (para-HydroxyPhenylPhenylHydantoïne) is de belangrijkste metaboliet van fenytoïne²⁾. Op grond van gemeten HPPH en glucuronide-HPPH concentraties (max 3,5 mg/l)^{2,3)} in relatie tot de gegeven crossreactiviteit kan gesteld worden dat de bijdrage van de metaboliet HPPH aan de fenytoïneconcentratie te verwaarlozen is.

De methodevergelijking is door ons onderzocht aan de hand van verschillende statistische parameters. James O. Westgard e.a.¹⁾ onderzochten de bruikbaarheid van algemene statistische testen die bij methodevergelijkingen toegepast worden. Zo blijken constante fouten effect te hebben op het intercept (b) van de regressielijn en op het gemiddelde verschil tussen de methoden (bias). Toevallige fouten veranderen de standaardafwijking van de verschillen tussen de gemeten Y-waarde en de door de regressielijn berekende Y-waarde (S_y); de standaardafwijking van de verschillen tussen de methoden (SD_d) en in mindere mate de correlatie coëfficiënt (r). Proportionele fouten beïnvloeden vooral de helling (m) van de regressielijn maar ook het gemiddelde en de standaardafwijking van de verschillen tussen de methoden (bias resp. SD_d).

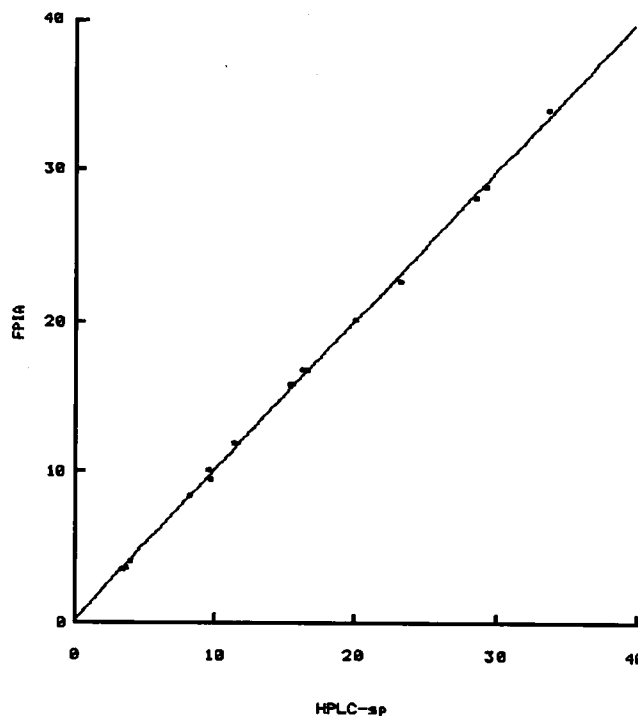
Van 115 patiëntmonsters werd de fenytoïneconcentratie zowel met de TDx als met een HPLC-SP methode bepaald. Ter vergelijking werden de resultaten van 15 KKGT-testen (zie tabel 1) bestudeerd. De meetresultaten werden statistisch verwerkt met het software programma STATGRAPHICS, versie 3.0.

Uit de grafische presentatie van de KKGT-testen en de patiëntmonsters (zie fig 1) blijkt dat aan de voorwaarden (voldoende lineariteit, geen uitschieters en voldoende range³⁾) voor het toepassen van lineaire regressie analyse voldaan is.

Tabel 2 geeft een overzicht van de verschillende statistische parameters. In de ideale situatie zullen de waarden van beide methoden aan elkaar gelijk zijn en vallen alle punten precies op de lijn die onder een hoek van 45° door het nulpunt gaat.



Regressie fenytoïne patiëntmonsters



Regressie fenytoïne KKGT-monsters

	ideaal	Abbott	KKGT TDx vs HPLC	PAT.M. TDx vs HPLC
n		26	15	115
range mg/l			3-35	3-50
m	1,000	1,009	0,980	1,024
b mg/l	0,00	0,85	0,29	0,76
S _y mg/l	0,00		0,31	0,93
bias mg/l	0,00		0,026	-1,034
SD _y mg/l	0,00		0,36	0,94
r	1,000	0,992	0,9995	0,991

Tabel 2: Overzicht statistische parameters

De TDx versus HPLC-studie van de KKGT-testen in vergelijking met die van de patiëntmonsters leidt tot de volgende conclusies.

De proportionele fout, te kwantificeren door de afwijking in de helling m, is in beide studies nagenoeg even groot (2,0 resp. 2,4%).

De constante fout, waarvoor het intercept b een kwantitatieve maat is, neemt van 0,29 mg/l voor KKGT-testen toe tot 0,76 mg/l voor patiëntmonsters. De laatst vermelde komt redelijk overeen met het intercept volgens de specificatie.

De toevallige fout, kwantitatief weergegeven door S_y, is bij patiëntmonsters (0,93 mg/l) duidelijk groter dan bij de KKGT-testen (0,31 mg/l).

De correlatie tussen de TDx en de HPLC-methode is voor de fenytoïnebepaling in patiëntsera minder goed dan in KKGT-testsera.

Zowel de constante als de toevallige fout is groter waarbij het verschil tussen de beide methoden kan oplopen tot een factor twee. Bij 10% van de patiëntmonsters was de TDx-waarde meer dan 20% hoger dan de HPLC-waarde.

Naast een matrix-effect (constante fout) is er dus sprake van een tweede effect (toevallige fout) dat mogelijk patiënt gebonden is. Om dit na te gaan werden vervolgonmonsters van patiënten waarvan de TDx-waarde meer dan 20% afweek van de HPLC-waarde met beide methoden geanalyseerd.

In tabel 3 staan de resultaten van deze vervolgonmonsters; de afwijking is bij herhaling teruggevonden. De oorzaak van de afwijking is onbekend en vereist nader onderzoek.

patiëntnr.	TDx waarde (mg/l)	HPLC waarde (mg/l)	TDx tov HPLC
patiënt 1	15,2	10,0	152 %
	19,2	13,7	140 %
patiënt 2	8,6	6,5	132 %
	14,0	11,1	126 %
patiënt 3	13,4	9,9	135 %
	13,7	11,8	116 %
patiënt 4	15,7	12,8	123 %
	8,8	4,4	200 %
patiënt 5	7,7	7,8	99 %
	13	6,9	188 %
patiënt 6	3,6	2,6	138 %
	8,4	6,5	129 %
patiënt 7	13,1	11,8	111 %
	4,9	3,7	132 %
patiënt 8	16	15	107 %
	8,5	7,5	113 %
patiënt 9	4,6	3,1	148 %
	7,9	5,0	158 %
patiënt 10	8,4	5,6	150 %
	4,9	2,5	196 %

Tabel 3: Vervolgspiegels van patiënten waarvan de TDx-waarde meer dan 20% afweek van de HPLC-waarde.

Bovenstaande is gepresenteerd tijdens de 3^e KKGT-discussiedag op 25 maart 1993 te Den Haag. Daarna meldden enkele collegae soortgelijke ervaringen en tweemaal werd opgemerkt dat het een dialyse patiënt betrof.

Inmiddels is over de oorzaak van de afwijking meer duidelijkheid gekomen door de studie van W.L. Roberts e.a.⁴⁾. Zij onderzochten m.b.v. verschillende immunobepalingen de fenytoïneconcentraties in serum van patiënten met normale en slechte nierfunctie.

De immuno-waarden werden vergeleken met HPLC-waarden.

De TDx-methode correleert goed met de HPLC-methode bij patiënten met een normale nierfunctie. Echter bij patiënten met een slechte nierfunctie wordt een significant verschil gemeten tussen de TDx- en de HPLC-waarden. De positieve bias kan leiden tot een factor 2 verschil. Ook zij sluiten storing door de vorming van HPPH en glucuronide-HPPH uit. Monsters van patiënten met een slechte nierfunctie die geen fenytoïne toegediend kregen, bevatten geen storende bestanddelen. De afwijkingen correleren niet met de creatinineklaringen. Zij komen tot de conclusie dat de TDx-afwijking in fenytoïneconcentraties van uremische patiënten veroorzaakt wordt door een of meerdere fenytoïne-metabolieten anders dan HPPH.

Voor patiënten met een slechte nierfunctie correleert de TDx-bepaling niet met de HPLC-bepaling van fenytoïne in serum. De TDx-waarde kan 100% hoger gemeten worden dan de HPLC-waarde.

Uit betrouwbare bron is vernomen dat er binnenkort een nieuwe fenytoïne-kit op de markt verschijnt. Hopelijk zal dit een verbetering zijn t.o.v. de huidige kit.

¹⁾ Clarke's Isolation and Identification of Drugs, second edition 1986.

²⁾ Direct HPLC analyses op p-hydroxyphenyl-phenylhydantoin glucuronide, the final metabolite of phenytoine, in human serum and urine, T.B. Vree e.o., Journal of Chromatography B.A. 526 (1990) 581-589.

³⁾ Use and Interpretation of Common Statistical Tests in Method-Comparison Studies, James O. Westgard and Marian R. Hunt, Clinical Chemistry, vol. 19, no. 1, 1973.

⁴⁾ Interference in Immunoassay Measurements of Total and Free Phenytoin in Uremic Patients: A Reappraisal, William L. Roberts and Petrie M. Rainey, Clinical chemistry, vol. 39, No 9, 1993.

juni 1995, Corrie Haring Apotheek Haagse Ziekenhuizen