

ONDERZOEK NAAR HET VERHOGEN VAN DE GEVOELIGHEID VAN DE FLx-BEPALING VAN TOBRAMYCINE.

D.J. Touw, ziekenhuisapotheker
A.I. de Graaf, klinisch farmaceutisch analist
Apotheek Haagse Ziekenhuizen

Inleiding

De FLx bepaling tobramycine van Abbott heeft een bepalingsondergrens van 0,1 mg/l. Er zijn situaties denkbaar dat er toch gevoeliger gemeten moet kunnen worden. Hierbij valt voornamelijk te denken aan farmacokinetisch onderzoek waarbij in de eliminatiefase van tobramycine serumconcentraties onder de 0,1 mg/l voor de beschrijving van het model relevant zijn.

De FLx pipetteert 20 µl uit het monster-
vaatje in het verdunningsvaatje en voegt hier 340 µl buffer aan toe. Om een factor 10 gevoeliger te kunnen meten wordt de volgende concentratiestap voorgesteld: In het monstervaatje dient buffer te worden gepipetteerd en in het verdunningsvaatje 450 µl van de te onderzoeken oplossing. Deze methode is vervolgens gevalideerd volgens de gangbare richtlijnen¹.

Methoden

Bepaling van de juistheid

Voor het onderzoek op juistheid is een calibratielijns opgesteld bestaande uit 12 punten in enkelvoud.

In het voorbeeld dient de bepaling lineair te zijn in het volgende gebied: 0,01 mg/l - 1 mg/l.

Bepaling van de precisie en de reproduceerbaarheid

Voor het onderzoek naar de herhaalbaarheid zijn 6 monsters bij drie verschillende concentraties geanalyseerd: 0,769 mg/l, 0,375 mg/l en 0,0938 mg/l.

Gezien de aard van het onderzoek is het onderzoek naar de reproduceerbaarheid niet uitgevoerd.

Onderzoek op specificiteit en selectiviteit

Voor het onderzoek op specificiteit en selectiviteit werden een blanco kalfs- en blanco humaan serummonster 6 x geanalyseerd alsmede monsters welke de volgende antibiotica bevatten in TDx-buffer:

ceftazidime (25, 50, 75 en 100 mg/l),
aztreonam (25, 50, 100 en 200 mg/l),
flucloxacilline (12.5, 25 en 50 mg/l),
cilastatine (25, 50, 100 en 200 mg) en
imipenem (25, 50, 100 en 200 mg/l),
gentamicine (0.5, 1.5, 3, 6 en 10 mg/l)
en netilmicine (1.5, 6 en 10 mg/l).
Ceftazidime, aztreonam, flucloxacilline,
cilastatine en imipenem zijn onderzocht omdat deze antibiotica frequent naast tobramycine in de onderzoekspopulatie worden voorgeschreven.

Uit de gevonden waarnemingen werd het cross-over percentage berekend.

Bepaling van de detectiegrens

Gezien de aard van de bepalingsmethode is bepaling van de detectiegrens niet mogelijk.

Bepaling van de bepalingsgrenzen

Ter bepaling van de onderste bepalingsgrens werd een reeks geanalyseerd bestaande uit 0.10, 0.08, 0.07, 0.06, 0.05, 0.04, 0.03, 0.02 en 0.01 mg/l.

Houdbaarheid van de monsters

Onderzoek naar de houdbaarheid is nog niet verricht.

Bepaling van het bereik

Het bereik is het interval tussen de bepalingsgrenzen.

Bepaling van de gevoeligheid

De gevoeligheid is niet nader onderzocht.

Bepaling van de robuustheid

De robuustheid is niet nader onderzocht.

Resultaten

Bepaling van de juistheid en lineariteit

De regressielijn kon met de volgende vergelijking worden beschreven:

$$y = -0,085 + 10,349 * X, R = 1,000.$$

De recovery (proportionele systematische fout) bedroeg 98,1% en het intercept - 0,085 mg/l (constante systematische fout).

Bepaling van de precisie

De variatiecoëfficiënt bedroeg bij 0,769 mg/l, 0,375 mg/l en 0,0938 mg/l respectievelijk 2,7%, 2,3% en 2,4%. Deze waarden zijn in overeenstemming met de waarden gevonden voor de controles low, medium en high bij de normaal uitgevoerde bepaling.

Onderzoek op specificiteit en selectiviteit

De volgende cross-over percentages werden gevonden:

ceftazidime 0%, aztreonam 0%, flucloxacilline 0%, cilastatine 0%, imipenem 0%, gentamicine bij 3 mg/l 1,0%, bij 6 mg/l 0,85% en bij 10 mg/l 0,40% en netilmicine bij 1,5 mg/l 2,7%, bij 6 mg/l 0,5% en bij 10 mg/l 0,3%.

Bepaling van de bepalingsgrenzen

De recovery alsmede de variatiecoëfficiënt bij concentraties onder de 0,14 mg/l waren als volgt (n=6):

C (mg/l)	recovery	v.c. (%)
0,138	96,0	1,8
0,106	92,1	2,4
0,087	88,1	3,1
0,068	88,7	3,4
0,059	86,2	3,2
0,048	86,4	2,4
0,039	85,5	3,1
0,025	88,8	3,4
0,016	77,6	16,6
0,010	69,4	16,1

Bepaling van het bereik

Het bereik van de bepaling is 0,025- 1,0 mg/l.

Conclusie

Met de gevolgde methode blijkt het mogelijk om de gevoeligheid van de FLx-bepaling tobramycine te vergroten. Als gevolg van een te grote variatiecoëfficiënt bij concentraties kleiner dan 0,025 mg/l is als ondergrens voor de bepaling 0,025 mg/l vastgesteld.

Referentie: 1. Vaart F.J. v.d. Richtlijnen voor de analytische validatie. Pharm.Weekblad 1992; 127:1229-1235.