

OTTIMIZZAZIONE DEI METODI PER IL DOSAGGIO DI ANTIEPILETTICI NELLA ROUTINE DI UN LABORATORIO ANALISI

M. Bagnati¹, M. Vidali¹, M. Albertario¹, N. Atzeni¹, D. Scarano¹, P. Porta¹, G. Tornotti¹, G. Bellomo¹

¹Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche, Azienda Ospedaliero-Universitaria Maggiore della Carità, Novara

Le richieste di dosaggio di antiepilettici di nuova generazione sono in continuo aumento. In particolare, nel nostro Laboratorio il numero di determinazioni per lamotrigina (LAMO), oxcarbazepina (OXCA) e levetiracetam (LEVE) sono aumentate da 276 (80 LAMO, 164 OXCA, 32 LEVE) nel 2007 a 511 (128 LAMO, 181 OXCA, 202 LEVE) nel 2008 e a 1065 (238 LAMO, 305 OXCA, 521 LEVE) nel 2009 (previsione a 12 mesi basata sui dati gennaio-luglio). Due metodi analitici (LAMO/OXCA e LEVE) precedentemente validati, completamente differenti per preparativa e analisi HPLC, sono stati ottimizzati per rispondere più appropriatamente alle richieste dei pazienti.

La preparazione e l'analisi (fase mobile e colonna) dei campioni sono state uniformate: 100 μ l di plasma sono deproteinizzati con 200 μ l di acido metafosforico 5%; dopo centrifugazione, 200 μ l di surnatante sono diluiti con 300 μ l di tampone fosfato 20mM pH 6,53. L'analisi è condotta in un Agilent 1200 HPLC-DAD con colonna C18 100mm x 4,6mm, 3,5 μ m, lettura 212nm, flusso 1,2ml/min, vol iniez 20 μ l, fase mobile costituita da tampone fosfato 20mM pH 6,53 (A) e acetonitrile (B). Prima vengono caricati i campioni analizzati per LAMO/OXCA (A 81%, B 19%), a cui seguono 5 min (A 100%) e 5 min (A 97% e B 3,5%), e successivamente i campioni per LEVE (A 97% e B 3,5%).

I dati della nuova validazione sono sovrapponibili a quelli della precedente: range di linearità, LOD, imprecisione e accuratezza sono rispettivamente 1-100mg/l ($R^2=0,998$), 0,3mg/l, 1% e 96% (DS 2,7%) per LAMO; 0,5-80mg/l ($R^2=0,999$), 0,1mg/l, <1% e 98% (DS 2,4%) per OXCA; 0,5-100mg/l ($R^2=0,999$), 0,2mg/l, 2,3% e 105% (DS 4,6%) per LEVE. La durata dei cromatogrammi è pari a 6 (LAMO/OXCA) e 8 min (LEVE). Il metodo LAMO/OXCA consente inoltre la determinazione di fenobarbitale, zonisamide ed etosuccimide (attualmente in uso).

L'ottimizzazione descritta, già implementata in routine, presenta numerosi vantaggi: risparmio di tempo e fase mobile, riduzione della frequenza di errori nella preparazione dei campioni, possibilità di determinare più analiti utilizzando un'unica preparativa (tra gennaio-luglio 2009, 28 pz avevano una richiesta per LAMO/OXCA e LEVE).

Bibliografia: Tomson T, Johannessen SI. European Journal of Clinical Pharmacology 2000;55:697-705.