

Nevýhodou imunoanalytických metod je možný výskyt zkřížených reakcí s metabolity léčiv, což vede k falešnému navýšení jejich koncentrace. Především imunoanalytické metody s polyklonálními protilátkami byly méně specifické a interference se projevila hlavně u léčiv s velkým množstvím metabolitů jako je např. cyklosporin A a takrolimus nebo u látek, kde došlo jen k malé změně struktury. Poprvé byla tato interference popsána u vankomycinu podávaného pacientům se sníženou funkcí ledvin, kdy docházelo k jeho kumulaci v organismu a následně přeměně vankomycinu na látku strukturálně blízkou tzv. CDP (crystalic degradation protein), který vyvolával zvýšení koncentrace vankomycinu o více než 60 % (6). Podobně se chovaly metabolity cyklosporinu A, kde docházelo až ke 100 % navýšení koncentrace cyklosporinu A (7).

Tyto poznatky vedly k rozvoji imunoanalytických metod s monoklonálními protilátkami a k jejich standardnímu testování na zkřížené reakce s metabolity i dalšími strukturálně blízkými látkami. Nově zaváděné metody byly specifitější a interference, pokud k nim docházelo, byly už podstatně menší. U cyklosporinu A byly testovány především primární metabolity a prokázalo se, že metabolit AM1 zvyšuje koncentraci cyklosporinu A o 40 % u FPIA a metabolit AM9 o 20 % u EMIT v porovnání s kapalinovou chromatografií (HPLC) (8). Na našem pracovišti jsme porovnávali cyklosporin A měřený metodou RIA s monoklonální protilátkou s metodou HPLC a našli jsme významně rozdílné hodnoty především u nejvyšších koncentrací cyklosporinu A a také u AUC (9). Poměrně vysoké nadhodnocení

koncentrace cyklosporinu A (53,7 %) a takrolimu (48,1 %) bylo zjištěno i při porovnání chemiluminiscenční metody CMIA a metody kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí LC-MS/MS (10). Podobně jsme porovnávali výsledky vankomycinu, získané metodou FPIA s monoklonální protilátkou a metodou LC-MS/MS u tří skupiny pacientů, s normální a zvýšenou koncentrací kreatininu a u pacientů na dialýze. Pouze u dialyzovaných pacientů byla metodou FPIA naměřena koncentrace vankomycinu o 13 % vyšší (11).

V tab. 1 je uveden přehled metod a počet stanovení některých léčivých látek na základě údajů z prvního cyklu EHK (Externího hodnocení kvality) RfB (Referenstinstitut für Bioanalytik) pro rok 2019 CS1/19 a AK1/19. Do systému EHK musí být zapojeny všechny akreditované laboratoře s požadovanou četností 2× ročně. Imunoanalytické metody s různým typem detekce zde stále tvoří významný podíl v rutinním TDM.

Fyzikálně-chemické metody

Spektrofotometrie

Spektrofotometrické metody se v analytice léčivých látek příliš nerozšířily, protože jejich použití bylo limitováno jednak časovou náročností a také častým výskytem interferencí se současně podávanými léky nebo endogenními faktory. Např. koncentrace teofylinu měřená spektrofotometricky v UV oblasti byla několikanásobně navýšena u pacientů s kotrimoxazolem jako výsledek interference s jeho složkou sulfametoxazolem, který má podobné absorpční maximum.

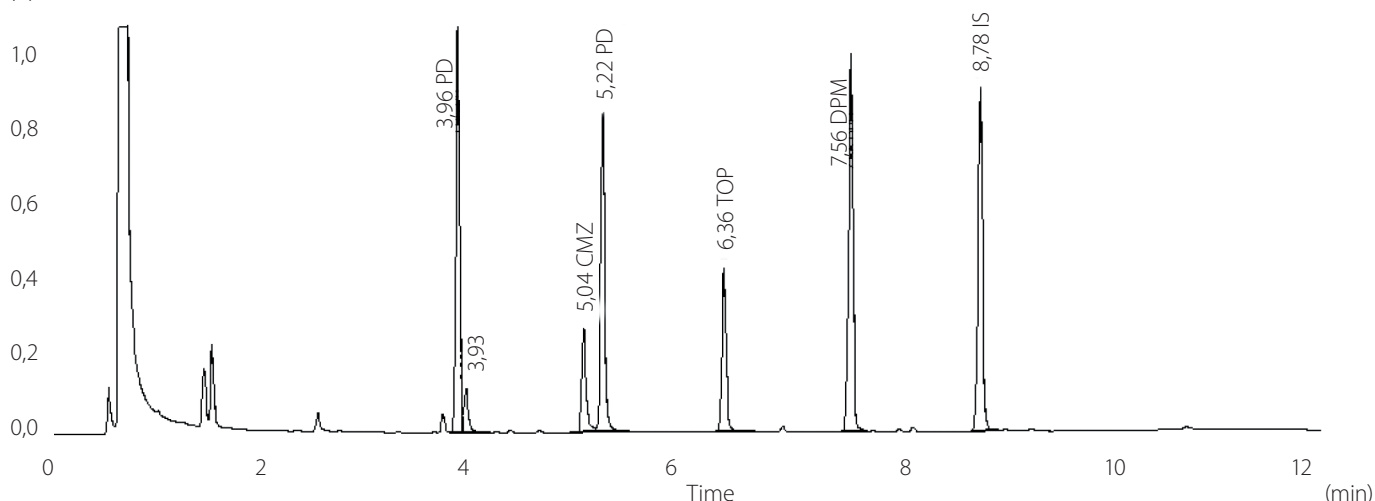
U intoxikací paracetamolem může zase zvýšená koncentrace bilirubinu interferovat při jeho stanovení a ovlivnit kvalitu výsledku. Protože na koncentraci paracetamolu závisí dávkování antidota N-acetylcysteinu, bylo použití této metody při zvýšené koncentraci bilirubinu nevhodné (12).

Elektromigrační metody

Elektromigrační metody jsou techniky, které využívají pohyb nabitých částic v elektrickém poli a lze je použít pro detekci nízkomolekulárních i vysokomolekulárních látek. Mezi přednosti těchto metod patří vysoká separační účinnost a nízká spotřeba vzorku i chemikálií, což v konečném důsledku vede ke snížení nákladů na analýzu. Mezi elektromigrační separační metody patří kapilární elektroforéza (CE) a její módy, tj. kapilární zónová elektroforéza (CZE) a nevodná zónová elektroforéza (NACE), micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MEKC), a izotachoforéza (ITP). Běžné postupy přípravy vzorku před vlastní analýzou zahrnují precipitaci proteinů, extrakci na tuhé fázi (SPE) nebo extrakci z kapaliny do kapaliny. U některých stanovení lze využít i přímý nástřik vzorku.

CE využívá k dělení látek kapiláru naplněnou základním elektrolytem, který vede proud a následná separace je založena na odlišnosti elektroforetických mobilit iontů v elektrickém poli. Poloha píků určuje kvalitu a plocha nebo výška píků kvantitu analyzované látky. Jedná se o výkonnou separační techniku, která má vysoké rozlišení a podobný separační čas jako HPLC. Podobně je to u NACE, která se provádí v nevodném, především metanolovém prostředí a MEKC, kde se na

Obr. 1. Analýza antiepileptik metodou GLC (V)



Analýza antiepileptik plynovou chromatografií po derivatizaci trimethylfenylamonium hydroxidem s termionickou detekcí. (PB – fenobarbital, CMZ – karbamazepin, PD – primidon, TOP – topiramát, DPD – fenytoin a IS – vnitřní standard)