ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LAS DETERMINACIONES DE CICLOSPORINA MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA POLARIZADA INDIRECTA

Porta Oltra, B., *Especialista en Farmacia Hospitalaria;* **Pérez-Ruixo, J. J.,** *Especialista en Farmacia Hospitalaria;* **Bertolín Olmos, B.,** *Residente III;* **Jiménez Torres, N. V.,** *Catedrático de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Jefe del Servicio de Farmacia.*

Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Dr. Peset. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Valencia.

Palabras clave:
Ciclosporina. Inmunofluorescencia polarizada indirecta. Farmacocinética.

Resumen:
El objetivo del presente trabajo es optimizar la determinación de CsA en sangre total mediante inmunofluorescencia polarizada indirecta con la finalidad de asegurar la calidad de la información obtenida en la monitorización de este fármaco. El análisis de la calidad de la determinación de CsA en sangre total mediante la técnica de inmunofluorescencia polarizada indirecta se ha realizado mediante la valoración de la precisión y la exactitud en la determinación de concentraciones conocidas de CsA (controles). La optimización de la calidad de la deteminación de CsA se ha realizado mediante el establecimiento y la validación de los límites de alerta y de invalidación asociados a los controles de forma individual (precisión) y poblacional (exactitud). Finalmente se procedió a la caracterización del modelo de error de la técnica analítica empleada. El análisis de los límites de precisión evidencia una similitud entre los límites de invalidación obtenidos en nuestro laboratorio y los recomendados por el laboratorio fabricante. Resulta de gran utilidad práctica disponer de límites de alerta con el fin de determinar con mayor sensibilidad la presencia de valores de concentraciones de referencia sesgados. No obstante, definir un intervalo de alerta más estrecho que el intervalo de invalidación permite equiparar dos determinaciones consecutivas fuera de los límites de alerta con una determinación fuera de los límites de invalidación. El análisis global de la exactitud exige la utilización de la media móvil con el fin de evidenciar tendencias sistemáticas en la determinación de los fármacos. El modelo de error para la determinación de CsA mediante inmunofluorescencia polarizada indirecta en nuestra unidad de farmacocinética clínica es un modelo proporcional con un coeficiente de variación inferior a 6%.

ANALYSIS OF THE QUALITY OF CYCLOSPORINE DETERMINATIONS BY INDIRECT POLARIZED IMMUNOFLUORESCENCE

Key words:
Cyclosporine. Indirect polarized immunofluorescence. Farmacokinetics.

Summary:
The aim of present study was to optimize cyclosporine A (CsA) determinations in whole blood using indirect polarized immunofluorescence for the purpose of ensuring the quality of drug monitoring information. The quality of CsA determinations in whole blood were analyzed using indirect polarized immunofluorescence by evaluating the

Correspondencia: Juan José Pérez Ruixo. Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Dr. Peset. Gaspar Aguilar, 90. 46017 Valencia. E-mail: nvictor@san.gva.es.

Este trabajo está enmarcado dentro del proyecto de investigación «Modelado del comportamiento farmacocinético y farmacodinámico de ciclosporina en pacientes con trasplante renal», concedido por la Fundación Española de Farmacia Hospitalaria en septiembre de 1999 y cuyo investigador principal es N. Víctor Jiménez Torres.

Fecha de recepción: 31-12-99

precision and accuracy of determinations of known CsA concentrations (controls). The quality of CsA determinations was optimized by establishing and validating limits for alerts and invalidation for individual (precision) and population (accuracy) controls. The error model of the analytic technique was characterized.
Analysis of the limits of precision showed that limits of invalidation obtained in our laboratory were similar to those recommended by manufacturer. Alert limits are useful for obtaining more sensitive identifications of the presence of biased reference concentration values. Nonetheless, by defining a narrower alert interval than the invalidation interval makes it possible to compare two consecutive determinations outside alert limits with a determination outside invalidation limits. Overall analysis of accuracy requires the use of a mobile phase to reveal trends in drug determinations. The error model for CsA determination by indirect polarized immunofluorescence in our clinical pharmacokinetics unit was a proportional model with a coefficient of variation of less than 6%.

Farm Hosp 2000;24(3):151-158

INTRODUCCIÓN

La individualización posológica de los fármacos de estrecho índice terapéutico, como la ciclosporina A (CsA), exige caracterizar el perfil farmacocinético del paciente en base a sus concentraciones en fluidos biológicos. La determinación de las concentraciones del fármaco en cualquier matriz biológica lleva implícito un error analítico; éste puede ocasionar una estimación sesgada de los parámetros farmacocinéticos del paciente y, en consecuencia, el establecimiento de pautas posológicas que no garanticen la efectividad y la seguridad del tratamiento farmacoterapéutico. En efecto, los errores analíticos de las técnicas empleadas en la monitorización de las concentraciones del fármaco podrán ocasionar modificaciones de la posología con resultados más o menos importantes sobre el paciente (1); su importancia clínica depende de factores como el ámbito terapéutico del fármaco, su concentración en estado estacionario y la sensibilidad del paciente al mismo. En este escenario es obvio que cuando la concentración real del fármaco se encuentra próxima a cualquiera de los límites de su ámbito terapéutico, la modificación en la dosis causada por un resultado analítico impreciso podrá ocasionar problemas de ineficacia terapéutica y la toxicidad yatrogénica del tratamiento (2).

En suma, garantizar la fiabilidad de la información de las concentraciones de los fármacos determinadas en el laboratorio de farmacocinética clínica es un aspecto estructural de la filosofía y práctica que soporta la monitorización de fármacos, ya que condiciona la calidad de los resultados clínicos en los pacientes. Por tanto, las unidades de farmacocinética clínica cumplen su cometido final cuando se asegura la fiabilidad y la calidad de la información farmacoterapéutica aportada a la atención del paciente (3).

La CsA es un fármaco inmunosupresor que se administra en pacientes con diversos trasplantes con el objetivo de prevenir el rechazo del injerto. La alta variabilidad, tanto a nivel interindividual como intraindividual, encontrada en los procesos cinéticos y dinámicos, así como el estrecho ámbito terapéutico asociado a este fármaco, particularmente evidente en las primeras semanas postrasplante, justifica la incorporación de la determinación de CsA en sangre total como un proceso más de la monitorización en el paciente trasplantado (4, 5). Así se ha demostrado la utilidad de la individualización posológica al prevenir el rechazo del órgano trasplantado, minimizar la toxicidad inherente al fármaco y/o evaluar la etiología de la disfunción del trasplante. A su vez esta práctica permite asegurar el cumplimiento del paciente y controlar diversos factores que alteran el perfil cinético del fármaco como pueden ser las interacciones farmacológicas (6, 7).

El objetivo del presente trabajo es analizar la calidad de la determinación de CsA en sangre total mediante inmunofluorescencia polarizada indirecta (ensayo monoclonal) con la finalidad de validar la información obtenida en la monitorización de este fármaco.

MÉTODO

El análisis de la calidad de la determinación de CsA en sangre total, mediante la técnica de inmunofluorescencia polarizada indirecta (Abbott, TDx), se ha realizado mediante la valoración de la precisión y la exactitud en la determinación de concentraciones conocidas de CsA (controles). La optimización de la calidad de la determinación de CsA se ha realizado mediante el establecimiento y la validación de los límites de alerta y de invalidación asociados a los controles de forma individual (precisión) y poblacional (exactitud). El establecimiento de estos límites se ha realizado mediante la determinación replicada de tres controles de concentración: 150 ng/ml (control bajo), 400 ng/ml (control medio) y 800 ng/ml (control alto) intercalados entre las muestras de los pacientes y procesados en días distintos comprendidos entre noviembre de 1996 y hasta mayo de 1997 (grupo A). Los resultados obtenidos durante este período de tiempo se validaron con los controles determinados en la misma unidad de farmacocinética clínica durante el período de tiempo comprendido entre junio de 1997 y julio de 1999 (grupo B). Finalmente, los datos obtenidos entre noviembre de 1996 y julio de 1999 se utilizaron para la caracterización del modelo de error de la técnica analítica empleada.

Técnica analítica

La determinación de la concentración sanguínea de CsA se ha realizado en el sistema automatizado TDx

(Abbott, Estados Unidos) mediante una metodología de inmunoensayo competitivo. Esta técnica se fundamenta en la competencia existente entre el antígeno marcado con fluoresceína (fármaco trazador) y el antígeno del paciente (fármaco a determinar) para ocupar los sitios de unión de las moléculas del anticuerpo (reactivo). Cuando se produce el enlace entre las moléculas la relación antígeno del paciente/trazador determina la cantidad de complejo anticuerpo-trazador formado, responsable último de la polarización resultante. A medida que la muestra del paciente contenga mayor cantidad de antígeno (fármaco), éste desplazará al trazador de su unión con el anticuerpo y se obtendrá una menor concentración del complejo anticuerpo trazador, que ocasionará una menor polarización. Por el contrario, cuando existe una baja concentración del antígeno en la muestra la concentración del complejo anticuerpo-trazador será mayor y su polarización será más elevada. Los valores de polarización obtenidos se transforman en concentraciones de CsA mediante la curva de calibración propia de la técnica analítica. De esta forma es posible obtener con relativa sencillez y rapidez concentraciones sanguíneas de CsA comprendidas entre 25 y 1.500 ng/ml. En este caso se han utilizado los controles dispensados por Abbott durante el período de tiempo comprendido entre noviembre de 1996 y julio de 1999.

Exactitud y precisión

La exactitud de la técnica analítica viene determinada por la concordancia del valor de la determinación analítica con el valor verdadero del control y se ha cuantificado mediante la media del error fraccional (ecuación 1). La precisión de la técnica analítica es el grado de dispersión existente entre una serie de observaciones repetidas y se ha cuantificado como la desviación estándar del error fraccional medio (ecuación 2) (8):

$$\text{Exactitud} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{n}\frac{y_j}{f(\phi)_j} \qquad \text{[ecuación 1]}$$

$$\text{Precisión} = \sqrt{\frac{1}{N-1}\sum_{i=1}^{n}\left[\frac{y_j}{f(\phi)_j}\right]^2} \qquad \text{[ecuación 2]}$$

donde y_j es el valor observado de la determinación analítica y $f(\phi)_j$ es el valor verdadero del control.

En ambos grupos de datos se valoró la normalidad de la distribución de probabilidad del error fraccional mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Asimismo, la comparación de la media del error fraccional entre los dos grupos (exactitud) se realizó mediante una prueba «t» de Student, y la homogeneidad de varianzas del error fraccional (precisión) se realizó mediante la prueba de Levene. Se asumió la existencia de diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p era inferior a 0,05.

El análisis de la exactitud y la precisión permite obtener el error analítico máximo asociado a cada concentración de referencia. El error analítico máximo (EAM) se calculó mediante la ecuación 3:

$$\text{EAM} = \text{Exactitud} + 2 \cdot \text{Precisión} \qquad \text{[ecuación 3]}$$

donde la exactitud y la precisión se expresan en porcentaje. Este parámetro permitirá comparar la exactitud y la precisión de esta técnica analítica en relación con el error máximo tolerable en la monitorización de CsA.

La valoración de la exactitud y precisión realizada de la forma descrita no permite evaluar el estado de la técnica analítica a partir de la determinación de un único control. En este sentido resulta de gran utilidad desarrollar procedimientos que permitan conocer el estado de la técnica analítica a tiempo real. Entre estos procedimientos se encuentra el establecimiento de los límites de exactitud y precisión.

Límites de precisión

Los límites de alerta utilizados en la determinación de CsA están definidos por el intervalo central de valores que contienen el 95% de los resultados de cada control. Del mismo modo se definen los límites de invalidación como el intervalo central de valores que comprende el 99% de los resultados obtenidos. Con los valores analíticos correspondientes al grupo A se han determinado los límites de alerta e invalidación para cada control mediante la construcción de los gráficos de control de Levy-Jennings. En estos gráficos se representa en el eje de abscisas el orden cronológico de las determinaciones realizadas y en ordenadas el valor observado. El gráfico resultante informa sobre la variabilidad de los resultados obtenidos.

La validación de los límites de precisión establecidos se ha realizado con los resultados analíticos obtenidos de los controles del grupo B. Para ello se ha comparado el porcentaje de valores fuera de los límites de alerta e invalidación estimados en los grupos A y B mediante la prueba estadística de Chi cuadrado. Se asumió la existencia de diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p era inferior a 0,05.

Límites de exactitud

Los límites de alerta e invalidación utilizados en la determinación de CsA están definidos por el intervalo central de valores, donde se sitúan el 95 y 99%, respectivamente, de las medias observadas en muestras de tamaño 30. Los límites de estos intervalos, también denominados intervalos de tolerancia, se han calculado en el grupo A a partir de la media y la desviación estándar poblacional. La evolución temporal de la media móvil

anterior de periodicidad 30 informa sobre la tendencia de los resultados obtenidos.

La validación de los límites de exactitud establecidos se ha realizado con los resultados analíticos obtenidos de los controles del grupo B. Para ello se ha comparado el porcentaje de días fuera de los límites de exactitud en los grupos A y B, mediante la prueba estadística de Chi cuadrado. Se asumió la existencia de diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p era inferior a 0,05.

Modelo de varianza del método analítico

El modelo de varianza de la técnica analítica es una función explícita que relaciona el valor de una determinada concentración del fármaco (concentración de referencia) y la variabilidad del método analítico asociada a esa concentración. En este caso se han seleccionado como concentraciones de referencia los controles utilizados en la monitorización de las concentraciones de CsA. Así, las medidas repetidas de estos controles permiten caracterizar su valor medio y su variabilidad, cuantificada mediante la desviación estándar.

Posteriormente, la relación existente entre las concentraciones plasmáticas y sus respectivas desviaciones estándar se ha estudiado mediante distintos modelos de varianza. Así, las desviaciones estándar correspondientes a cada concentración de referencia se ajustaron a una ecuación polinómica de tercer orden. Este modelo se comparó con la serie de modelos restringidos establecidos, de modo secuencial, mediante la supresión de alguno o algunos de los términos del polinomio de tercer grado. En los modelos desarrollados se ha incluido el término independiente para estimar el límite de cuantificación de la técnica analítica. La estimación de los parámetros del modelo se realizó por regresión lineal por mínimos cuadrados ordinarios. La selección del modelo de varianza que caracteriza la variabilidad de la técnica analítica de CsA se realizó en base a los resultados del ajuste de los modelos, en términos de suma de cuadrados de los residuales (SS), coeficiente de determinación ajustado (r^2 adj) y criterio de información de Akaike (AIC).

RESULTADOS

Durante el período de estudio se han procesado mediante inmunofluorescencia polarizada indirecta un total de 505 datos experimentales correspondientes a los controles analíticos bajo, medio y alto disponibles para la determinación de CsA. De ellos, los primeros 252 valores se han asignado al grupo A y los 253 restantes al grupo B. La media y la desviación estándar correspondiente a cada control analítico en ambos grupos de estudio se muestra en la tabla 1.

Exactitud y precisión de la técnica analítica

Los resultados del análisis de la exactitud y precisión mediante el error fraccional se muestra en la tabla 2. La prueba de Kolmogorov-Smirnov no detectó diferencias estadísticamente significativas respecto de la distribución normal en ninguna de las concentraciones de referencia estudiadas. En ninguno de los casos se aprecian diferencias estadísticamente significativas, aunque los valores de la concentración de referencia de 150 ng/ml en el grupo B tienden a ser menores que en el grupo A. Estos mismos resultados, expresados en forma gráfica, se muestran en la figura 1, donde se aprecia que el intervalo de confianza del 95% del error fraccional incluye el valor unitario, y, por tanto, en ningún caso existe un sesgo sistemático, salvo en el grupo A cuando la concentración de referencia es de 150 ng/ml. La homogeneidad de varianzas entre ambos grupos se comprobó mediante la prueba de Levene. Estos resultados indican que la exactitud y la precisión entre ambos grupos no difiere de forma significativa, aunque en el grupo A la concentración de referencia de 150 ng/ml presenta una tendencia sistemática a ser sobrevalorada. De hecho estas concentraciones de referencia son, en promedio, un 2,4% más elevadas que su valor real.

Por otra parte, el error analítico máximo en el grupo A para las concentraciones de referencia de 150, 400 y 800 ng/ml es del 21,2, 19,1 y 15,5%, respectivamente. En el grupo B los valores obtenidos son 19,8, 16,2 y 14,8 para las concentraciones de referencia de 150, 400 y 800 ng/ml, respectivamente.

Tabla 1. Concentraciones experimentales y desviación estándar de las concentraciones de referencia de CsA

Concentración referencia (ng/ml)	Grupo A			Grupo B		
	N	Media	DE	N	Media	DE
150	86	153,67	14,17	83	149,44	14,62
400	83	398,86	37,45	78	397,48	31,32
800	83	791,54	57,94	92	793,44	56,07

Límites de precisión

Los gráficos de control de Levy-Jennings que representan los límites de alerta e invalidación para el con-

Tabla 2. Error fraccional medio y desviación estándar de las determinaciones de los controles analíticos de CsA

Concentración referencia (ng/ml)	Grupo A			Grupo B			p*
	N	Media	DE	N	Media	DE	
150	86	1,024	0,094	83	0,996	0,097	0,058
400	83	0,997	0,094	78	0,994	0,078	0,801
800	83	0,989	0,072	92	0,992	0,070	0,826

* Prueba «t» de Student Fisher.

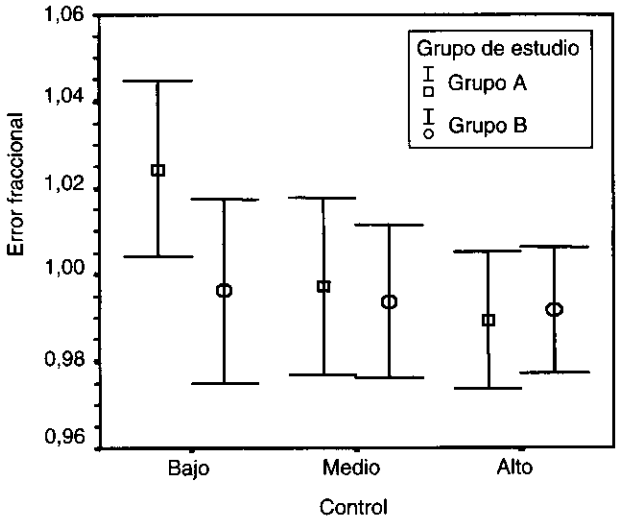

Figura 1.—Media e intervalo de confianza del 95% de la relación entre los valores observados y la concentración de referencia.

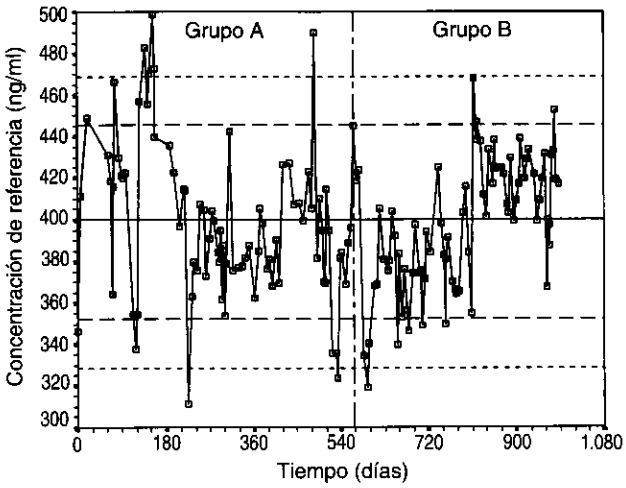

Figura 3.—Gráfico de control de Levy-Jennings para la concentración de referencia de 400 ng/ml.

trol analítico bajo, medio y alto se representan en las figuras 2, 3 y 4, respectivamente. En estos gráficos se aprecia que para los tres controles los valores observados en las determinaciones analíticas se distribuyen de forma aleatoria alrededor del valor de referencia y en su mayoría se encuentran dentro de los límites de invalidación establecidos tanto para los valores observados en el grupo A como en el grupo B. El porcentaje de valores fuera de los límites de alerta e invalidación en los grupos A y B, así como la significación estadística resultante de su comparación, se muestra en la tabla 3. En todos los casos las diferencias entre los grupos A y B no son estadísticamente significativas, excepto en el control medio, donde el porcentaje de determinaciones dentro de los límites de invalidación es mayor para el grupo B.

Límites de exactitud

La evolución temporal de la media móvil anterior de periodicidad 30 y los límites de alerta e invalidación de cada control se muestran en las figuras 5, 6 y 7. En todos ellos se aprecia una mayor tendencia a distanciarse del valor de referencia e infravalorar el valor de las concentraciones de referencia en las determinaciones realizadas en el grupo B. En todas las concentraciones de referencia, entre los días 600 y 800, se observa una tendencia sistemática a obtener resultados por debajo del límite inferior de invalidación. Por otro lado, también se observan resultados por encima de los límites superiores de alerta e invalidación a partir del día 900 del estudio. El porcentaje de valores fuera de los límites de alerta e invalidación en los grupos A y B, así como la significación estadística resultante de su comparación, se muestra en la tabla 4. En el grupo B para cualquier

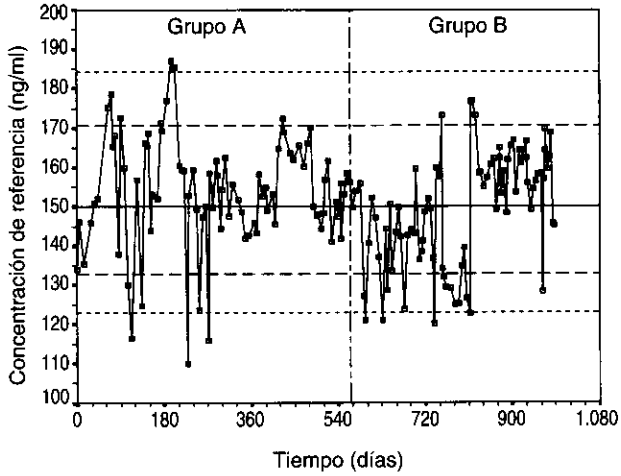

Figura 2.—Gráfico de control de Levy-Jennings para la concentración de referencia de 150 ng/ml.

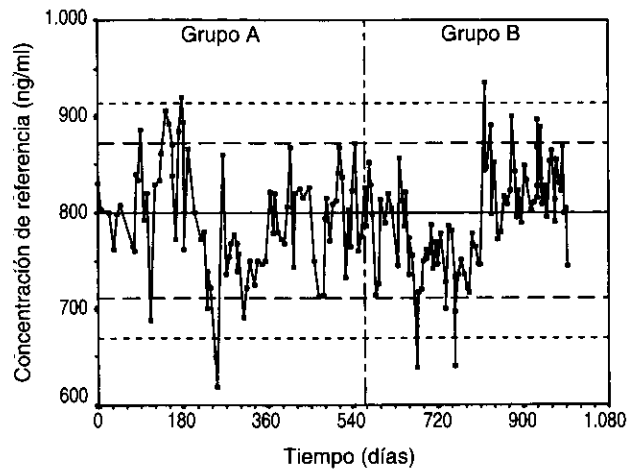

Figura 4.—Gráfico de control de Levy-Jennings para la concentración de referencia de 800 ng/ml.

Tabla 3. Límites de alerta e invalidación para valorar la precisión de la técnica analítica de CsA en función de la concentración de referencia y porcentaje de controles dentro de estos límites en el grupo A y B

Límites	Control	Inferior	Superior	% grupo A	% grupo B	p*
Alerta	Bajo	132,7	170,5	84	78	0,369
	Medio	352,0	445,7	82	87	0,356
	Alto	719,3	872,8	87	88	0,796
Invalidación	Bajo	123,0	184,3	94	95	0,773
	Medio	328,6	469,1	92	99	0,027
	Alto	669,6	913,4	96	97	0,898

* Prueba de χ^2.

concentración de referencia el porcentaje de determinaciones dentro de los límites de alerta e invalidación es significativamente inferior al obtenido en el grupo A.

Modelo de error de la técnica analítica

Los modelos de error utilizados para caracterizar la desviación estándar asociada a cada concentración de referencia, así como los criterios para la selección del modelo óptimo, criterio de información de Akaike (AIC), suma de cuadrados de los residuales (SS) y coeficiente de determinación ajustado (r^2 adj) se muestran en la tabla 5. Según estos criterios, el modelo que mejor describe la desviación estándar asociada a cada concentración es el modelo aditivo proporcional (modelo II de la tabla 5), puesto que presenta el menor AIC y el mayor r^2 ajustado. De esta forma el modelo de error para la determinación de CsA mediante inmunofluorescencia polarizada indirecta en nuestra unidad de farmacocinética clínica queda definido mediante la ecuación 4:

$$\sigma = 9{,}724 + 0{,}05918 \cdot Cp \qquad \text{[ecuación 4]}$$

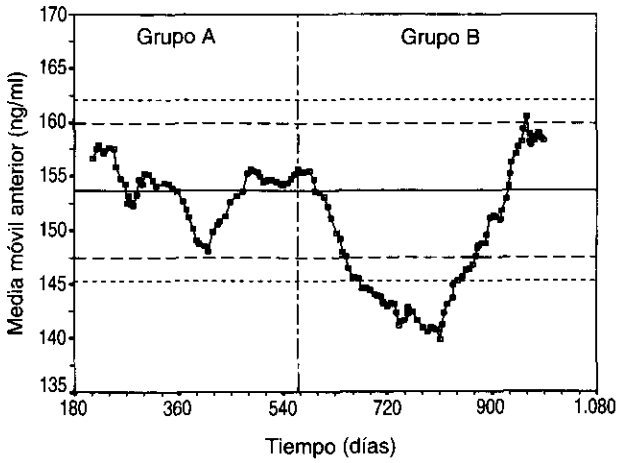

Figura 5.—Media móvil anterior (periodicidad 30) para la concentración de referencia de 150 ng/ml.

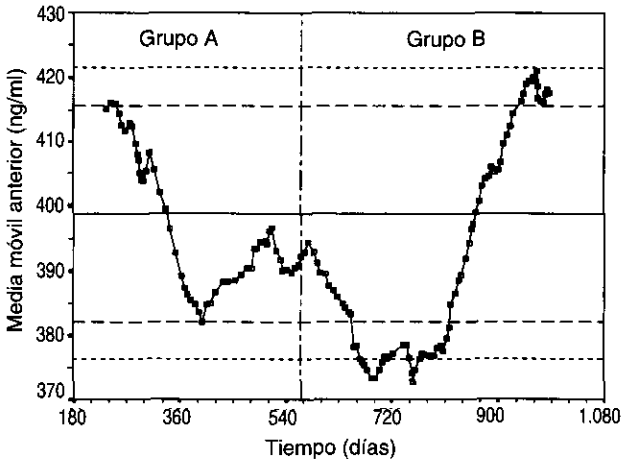

Figura 6.—Media móvil anterior (periodicidad 30) para la concentración de referencia de 400 ng/ml.

Es decir, para valores de concentraciones sanguíneas de CsA superiores a 30 ng/ml el error de la técnica analítica es inferior al 6%.

DISCUSIÓN

Garantizar la calidad de las determinaciones realizadas en el laboratorio de farmacocinética clínica y establecer y validar procedimientos de alarma que permitan identificar situaciones donde la exactitud y precisión de la técnica analítica están comprometidas son consideradas funciones básicas de los laboratorios de estas unidades asistenciales. Por este motivo conocer la exactitud y la precisión con la cual se establecen las concentraciones de cada fármaco en cada laboratorio es obligado. En nuestro caso (tablas 1 y 2) la exactitud y precisión de la inmunofluorescencia polarizada indirecta en la determinación de CsA presenta una tendencia sistemática

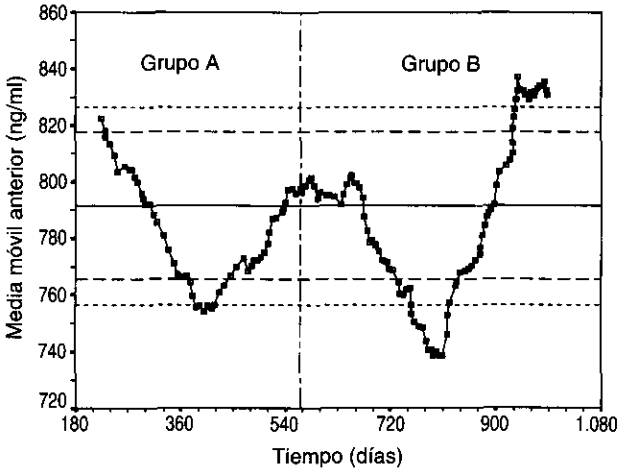

Figura 7.—Media móvil anterior (periodicidad 30) para la concentración de referencia de 800 ng/ml.

Tabla 4. Límites de alerta e invalidación de la exactitud de la técnica analítica de CsA en función de la concentración de referencia y porcentaje de controles dentro de estos límites en el grupo A y B

Límites	Control	Inferior	Superior	% grupo A	% grupo B	p*
Alerta	Bajo	147,4	159,9	100	50,6	< 0,001
	Medio	382,1	415,7	96,3	43,6	< 0,001
	Alto	765,6	817,5	77,8	53,8	0,003
Invalidación	Bajo	145,3	162,1	100	61,4	< 0,001
	Medio	376,3	421,5	100	85,9	0,004
	Alto	756,6	826,5	88,9	65,9	0,001

* Prueba de χ^2.

a sobrevalorar en un 2,4% las concentraciones de referencia de 150 ng/ml. Este sesgo carece de importancia clínica por cuanto que es inferior a la variabilidad analítica establecida mediante el modelo de error de esta técnica analítica (5,9%) para la determinación de CsA.

Por otra parte, los resultados del error analítico máximo deben ser interpretados en función del error máximo tolerable para la determinación de CsA mediante esta técnica analítica. Cuando el análisis replicado de una muestra define una distribución de frecuencia gaussiana para los resultados obtenidos, cualquier concentración sanguínea correspondiente a la mitad del ámbito terapéutico será considerada dentro de este ámbito, con una probabilidad menor al 5%, si su desviación estándar es inferior a la cuarta parte del ámbito terapéutico. Esta desviación estándar constituye el error analítico máximo tolerable. Es decir, si se considera el ámbito terapéutico de CsA entre 150 y 350 ng/ml, el error máximo tolerable para su determinación mediante inmunofluorescencia polarizada es de 50 ng/ml, o el 20% si se normaliza respecto a la concentración sanguínea a mitad del ámbito terapéutico. Cuando los errores máximos tolerables son inferiores al 25%, la técnica analítica presenta una exactitud y precisión adecuadas siempre que los errores analíticos máximos de cada concentración de referencia sean iguales o inferiores al error analítico máximo tolerable como sucede en nuestro caso.

Tabla 5. Coeficiente de determinación ajustado (r^2 adj), criterio de información de Akaike (AIC) y suma de cuadrados de los residuales (SS) en función de modelos de error

Modelo de error		r^2 adj	AIC	SS
I. Constante	$\sigma = P_1$	0	30,633	1.284,813
II. Aditivo proporcional	$\sigma = P_1 + P_2 \cdot Cp$	0,969	9,173	26,801
III. Aditivo-cuadrático	$\sigma = P_1 + P_2 \cdot Cp^2$	0,901	21,765	84,876
IV. Polinómico de segundo orden	$\sigma = P_1 + P_2 \cdot Cp + P_3 \cdot Cp^2$	0,943	18,749	24,222

El análisis de los límites de precisión evidencia una similitud entre los límites de invalidación obtenidos en nuestro laboratorio y los recomendados por el laboratorio fabricante. Así, los límites para la concentración de referencia de 150 ng/ml se sitúan entre 120 y 180 ng/ml, los límites para la concentración de referencia de 400 ng/ml son 340 y 460 ng/ml, y los límites para la concentración de referencia de 800 ng/ml se sitúan entre 680 y 920 ng/ml. Sin embargo, es de gran utilidad práctica disponer de límites de alerta, con el fin de determinar con mayor sensibilidad la presencia de valores de concentraciones de referencia sesgados. No obstante, al ser el intervalo de alerta más estrecho que el intervalo de invalidación y, con el fin de evitar la presencia de falsos positivos, se considera que dos determinaciones consecutivas fuera de los límites de alerta tiene el mismo valor que una determinación fuera de los límites de invalidación.

El establecimiento de estrategias que permitan valorar de forma continuada el estado de la técnica analítica garantiza la calidad de la información obtenida a partir de las concentraciones sanguíneas. En este sentido, la utilización de la media móvil es útil para evidenciar tendencias sistemáticas en la determinación de los fármacos. De hecho, en las figuras 5, 6 y 7 se aprecia cómo se podría haber anticipado el sesgo ocasionado en la determinación de CsA si se hubiese realizado de forma continuada el análisis de los 30 valores anteriores. Es más, esta práctica debería ser incluida en los procedimientos normalizados de trabajo de los laboratorios de farmacocinética clínica y, en la medida que fuese posible, debería ser informatizada con el fin de ayudar a la toma de decisiones. De esta forma es posible la validación continua de la técnica analítica utilizada para garantizar la óptima interpretación de las concentraciones sanguíneas de CsA.

Finalmente, la importancia de la determinación del modelo de error de la técnica analítica se deriva de su importancia en la estimación bayesiana de los parámetros farmacocinéticos de CsA. En efecto, la aplicación de la técnica bayesiana, con garantía de éxito, requiere estimados exactos y precisos de los parámetros farmacocinéticos poblacionales y de su variabilidad (9). Una correcta selección de un modelo poblacional, cuyos parámetros van a ser utilizados como información previa para la dosificación de los pacientes, exige conocer el índice de credibilidad o contenido veraz de la información que proporciona un determinado valor de concentración plasmática en el paciente (10). Así, uno de los sumatorios de la función objetivo bayesiana a minimizar se refiere a las concentraciones de fármaco en sangre del paciente, que se ponderan mediante la varianza de dichas concentraciones (variabilidad residual). La variabilidad residual se debe a la presencia de errores aleatorios, no controlables y no explicables por diferencias interindividuales. Entre las potenciales fuentes de error que afectan a la variabilidad residual se puede citar la técnica analítica, la preparación y toma de la muestra, los procesos de preparación y administración

del fármaco, el modelo farmacocinético utilizado y la variabilidad intraindividual. En general, la variabilidad residual se cuantifica mediante la varianza residual (σ^2) (3). En algunas ocasiones la variabilidad ocasionada por la técnica analítica es la determinante principal de la variabilidad residual. En este caso la varianza de la técnica analítica es una buena estimación de la varianza residual y, por tanto, es la ponderación más adecuada para la correcta utilización de los algoritmos bayesianos. Para poder ponderar cada valor de concentración en sangre de acuerdo con la varianza de la técnica analítica es necesario obtener el modelo de varianza de la técnica analítica. Este modelo es una función explícita que relaciona la variabilidad de la técnica analítica (expresada como desviación estándar, σ_t) y el valor de la concentración plasmática.

En opinión de los autores, los procedimientos descritos para optimizar la monitorización de las concentraciones sanguíneas de CsA deben realizarse en cada laboratorio de farmacocinética clínica con el fin de adecuar los procesos de trabajo al entorno en el cual se desarrollan.

BIBLIOGRAFÍA

1. Montojo C, García MJ, Domínguez-Gil A. Monitorización de fármacos: importancia del error analítico. Revista AEFH 1986;10:257-62.
2. Montojo C, Soler M, Tamayo M, Domínguez-Gil A. Control de calidad en un laboratorio de monitorización de fármacos. I: control de calidad interno. Revista AEFH 1987;11:125-31.
3. Jiménez NV, Casabó VG, Sancho V. Manual de procedimientos para farmacocinética clínica, 1.ª ed. Valencia: AFAHPE; 1997. p. 29-40.
4. Kahan BD. Pharmacokinetic considerations in the therapeutic application of cyclosporine in renal trasplantation. Transplant Proc 1996;28:2141-3.
5. Parke J, Charles BG. NONMEM population pharmacokinetic modeling of orally administered cyclosporine from routine drug monitoring data after heart transplantation. Ther Drug Monitor 1998;20: 284-93.
6. Tsumoda SM, Aweeka FT. The use of therapeutic drug monitoring to optimise inmunosuppresive therapy. Clin Pharmacokinet 1996;30:107-40.
7. Lindholm A, Dahqvist R, Groth CG, Sjöqvist F. A prospective study of cyclosporine concentration in relation to its therapeutic effect and toxicity after renal transplantation. Br J Clin Pharmacol 1990; 30:443-52.
8. Ordovás Baines JP, Jiménez Torres NV, Abad Gimeno FJ. Evaluación de la exactitud de métodos predictivos en farmacocinética clínica. Rev OFIL 1991;1: 115-21.
9. Casabó VG, Merino M, Nácher A, Hermenegildo M, Jiménez NV. Elección del modelo de error del análisis de fármacos mediante TDX. En: Napal V, Ferrándiz JR, eds. XXXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, SEFH; 1993. p. 447-9.
10. Aumente MD, Pérez A, Panadero MD, Álvarez J. Caracterización del modelo de error del ensayo TDx ciclosporina monoclonal en sangre total. Farm Hosp 1996;20:181-4.