

ETUDE DES INTERFERENCES (métabolites et autres) sur les dosages de Médicaments

Monique MANCHON, Roland MELEY

1. - DIGOXINE

1.1- Structure :

Hétéroside d'origine végétale comportant un noyau génine, la digoxigénine et une chaîne de 3 molécules de digitoxose.

1.2- Métabolisme et pharmacocinétique :

C'est un médicament d'action semi-lente et d'élimination semi-prolongée. Absorbée à 70 %, le pic d'action se situe entre 1 et 5 heures ; la digoxine circule liée à l'albumine pour 20-25 % ; les hypoalbuminémies n'ont donc que peu d'incidence sur le résultat d'un dosage. Elle se fixe fortement sur les tissus, préférentiellement sur le cœur, le foie, les reins, le muscle squelettique, son volume de distribution est très important (426 litres). La concentration myocardique est très bien corrélée avec la concentration plasmatique, ce qui participe à l'intérêt de son dosage.

Elle est éliminée pour 90 % par voie rénale, ce qui rend son utilisation dans les insuffisances rénales contre indiquée, ou prudente : espacement des prises et surveillance du taux sérique. La demi-vie moyenne est de 36 heures (1 à 3 jours).

La biotransformation concerne environ 10 % du produit ingéré : La digoxine est dégradée par le foie grâce à une saturation du cycle lactonique produisant la dihydrodigoxine et par hydrolyse des molécules osidiques. Les dérivés digoxigénine mono ou bis digitoxoside conservent une activité pharmacologique alors que la digoxigénine et la dihydrodigoxine sont dépourvues d'effets. La métabolisation peut être importante expliquant parfois la résistance inhabituelle de certains patients au traitement.

1.3- Interférence de la digoxigénine sur les techniques de dosage :

Compte tenu de l'inactivité pharmacologique de la digoxigénine, il est préférable que les techniques de dosage ne prennent pas en compte la digoxigénine.

Les essais fait au cours des programmes 1997-1998 et 1999-2000 ont montré que la plupart des techniques dosaient à la fois la digoxine et la digoxigénine, c'est le cas des techniques : TDX, Axsym, Emit, Dimension et Vidas.

Dans nos essais, trois méthodes apparaissent plus spécifiques : Elecsys, Tinaquant, Intégra.

Deux méthodes, l'ACS et l'Opus ont un comportement atypique :

- l'ACS présente une interférence faible lors du contrôle réalisé en 97-98, et une interférence négative lors de notre deuxième essai 99-2000.
- l'Opus ne présentait pas d'interférence sur notre premier essai et une interférence faible lors de notre deuxième essai.

1.4- Résultats de l'essai 1999 - 2000

Technique de dosage	Sérum avec 1,2 µg/l de Digoxine	Sérum avec 1,2 µg/l de Digoxine et 0,3 µg/l de Digoxigénine
	Moyenne des résultats (µg/l)	Moyenne des résultats (µg/l)
TDX	1,08	1,90
AxSym	1,11	2,02
EMIT	1,21	1,79
Dimension	1,15	1,92
Vidas	1,28	1,98
Elecsys	1,47	1,48
Intégra	1,33	1,34
Tina-Quant	1,28	1,28
Opus	1,09	1,29
ACS	1,31	1,20

1.5- Réactions croisées de la Cédilanide : (cf contrôles Q1 et Q2 de mai 1998)

L'aglycone de la Cédilanide est identique à celle de la digoxine, la chaîne sucrée comprend 4 sucres: 3 digitoxose et 1 glucose alors que la digoxine ne comprend que 3 sucres (3 digitoxose).

La solubilité de la Cédilanide est voisine de celle de la digoxine, l'absorption digestive est faible et inconstante, ce qui explique une utilisation uniquement intra veineuse. La fixation protéique est négligeable, la bio transformation se fait pour une part importante en digoxine.

Les indications de la Cedilanide sont l' oedème aiguë du poumon et les troubles du rythme supra ventriculaires. Elle s'utilise en IV, 1 à 4 ampoules de 0,4 mg par jour.

Classiquement, la surveillance thérapeutique se fait par des dosages de digoxine mais compte tenu des administrations pouvant être répétées au cours de la journée (toutes les 8 heures), le prélèvement réalisé juste avant l'injection suivante contient à la fois du deslanoside et de la digoxine.

L'idéal est que la méthode utilisée dose de façon identique le deslanoside et la digoxine; or les différentes méthodes de dosage de la digoxine n'apprécient pas le deslanoside de la même façon et la réactivité croisée n'est pas toujours annoncée par le fabricant.

C'est pourquoi il nous a semblé utile de faire ce test qui consiste à doser la "digoxine" dans un échantillon d'albumine humaine ne contenant que de la cédilanide (2 microg/l)

La réaction croisée de la Cedilanide sur le dosage de la digoxine semble se situer pour la plupart des techniques entre 70% et 75%: Abbott 72%; Emit 74%; ACS 76%; Tinaquant 72%; Access 65%...

Elle est inférieure sur le Vidas (57%) et l'Opus (environ 50%) et elle semble proche de 100% avec la méthode Cedia sur les CX Beckman.

Le but de cette opération était de connaître cette réaction croisée afin de rendre des résultats interprétables en cas de surveillance de traitement par la Cedilanide, la notation par rapport à la moyenne pour l'ensemble des résultats n'a donc pas de signification.

1.6- Dosage en présence d'anticorps anti-digoxine

(Fab Digidot utilisé pour traiter les intoxications digitaliques)

L'échantillon O2 a été préparé artificiellement à partir d'un liquide pleural surchargé en digoxine (concentration finale de 4 µg/l) et en Digidot (Médicament composé de fragment Fab anti-digoxine, utilisé dans les traitements des intoxications digitaliques), de façon à simuler une situation clinique de début de traitement par Digidot.

Nous avons eu la surprise de constater une répartition des techniques en 3 catégories :

- 1- des techniques ne dosant apparemment que la digoxine libre : TDx, AxSym, IMx, Stratus, Opus.
- 2- une technique dosant la digoxine totale : ACA (code technique NQ), qui n'existe plus à ce jour.
- 3- les autres techniques présentant une interférence majeure : Vidas, Emit, ACS, Cedia,...

Plusieurs explications peuvent être données :

- les techniques sandwich ne présentent apparemment pas d'interférences, la digoxine liée aux fragments Fab n'est pas retenue par les anticorps de la première étape immunologique (Stratus, IMx, OPUS)
- les techniques avec déprotéinisation (TDx) semblent éliminer le complexe Digoxine-Fab et donc ne doseraient que la digoxine libre.

Cependant 7 laboratoires sur 54 ont trouvé des résultats différents de 0 en technique TDx et 2 laboratoires "Stratus" ont trouvé des résultats aberrants : s'agirait-il d'une altération de la liaison digoxine-Fab au cours de la conservation de l'échantillon? Un traitement préalable de l'échantillon a-t-il été réalisé? .

- les techniques par compétition présentent une forte interférence d'une manière générale, sauf la technique ACA qui donnait un résultat proche de la digoxine totale à 4 µg/l. Pour expliquer ce phénomène, il faut noter que les Fab peuvent se fixer sur les molécules du traceur dans la réaction immunologique. Dans ces conditions, la variabilité de comportement des techniques par compétition pourrait alors s'expliquer par la différence de concentration en traceur utilisé dans chaque méthode de dosage.

Les essais pratiqués dans nos laboratoires de séparer grâce à une filtration la digoxine libre et la digoxine liée aux anticorps n'ont pas été concluants, la séparation étant très inconstante.

L'enseignement à tirer de cette expérience est: dans le cas d'une intoxication à la digoxine traitée par le Digidot, il

est important de disposer d'une technique ne dosant que la digoxine libre, pharmacologiquement active afin de suivre l'efficacité du traitement; nous conseillons d'utiliser une technique sandwich afin de rendre le résultat en digoxine libre et de faire le dosage très rapidement après le prélèvement.

1.7- Interférence de substances "digoxine-like" : (cf contrôle O1 de février 1996)

L'échantillon O1 était un liquide d'ascite obtenu chez un insuffisant rénal non traité par la digoxine: le but du dosage était d'apprécier l'importance de l'interférence d'une substance Digoxine-like dans les différentes techniques : il apparaît que dans ce cas étudié, la polarisation de fluorescence, et à un degré moindre la méthode EMIT, sont plus sensibles à cette interférence que les autres méthodes, mais il n'est pas possible de généraliser ce comportement vis à vis de toutes les substances "digoxine-like" pouvant exister dans les sérums des patients . On est néanmoins surpris par la grande hétérogénéité des résultats au sein d'une même technique. Il faut avoir présent à l'esprit que ce type d'interférence peut atteindre 1 µg/l, ce qui correspond à une concentration thérapeutique.

Les techniques de dosage ayant évoluées de façon importante depuis 1996, nous essaierons de refaire ces essais dès que possible.

Les résultats obtenus au cours des différents essais prouvent que les dosages de digoxine peuvent présenter de réelles difficultés d'interprétation pour le biologiste et qu'il est indispensable de disposer de certains renseignements cliniques accompagnant les demande de digoxinémie (insuffisance rénale, insuffisance hépatique, femme enceinte, intoxication traitée, ...).

2. - CARBAMAZEPINE :

2.1- Structure :

La carbamazépine est un dérivé imino-stilbène, à structure dibenzoazépine (5-carbamyl-5H-dibenzoazépine), apparenté chimiquement aux antidépresseurs tricycliques.

2.2- Métabolisme et pharmacocinétique :

(Cahier de formation Bioforma - N°18 - A.MIALON - p.43 à 57)

- **Biodisponibilité** : après administration par voie orale, 75 à 85 % de la dose ingérée est absorbée par le tube digestif et atteint la circulation générale. L'absorption est lente et irrégulière.
- **Pic plasmatique** : en fonction des formes galéniques et des individus, il est obtenu en 2 heures (suspension) , 12 heures (comprimé), 24 heures (comprimé à libération prolongée).
- **Liaison aux protéines** : la carbamazépine est fortement liée aux protéines plasmatiques (75 à 85 % de taux de liaison), en particulier à l'albumine.
- **Métabolisme hépatique** : cette molécule est comme les autres antiépileptiques majeurs fortement métabolisée au niveau du foie (98 % de transformation hépatique). Le métabolite principal obtenu par oxydation est le 10,11 époxyde pharmacologiquement actif. L'époxyde serait responsable des effets secondaires (action anti-diurétique, thromboembolies, troubles de conduction, syndrome cholinergique).Sa concentration est variable en fonction des traitements associés et de la durée du traitement. L'auto-induction du métabolisme de la carbamazépine explique que la proportion d'époxyde augmente en cas d'administration répétée dans les urines.

En outre, la carbamazépine est un puissant inducteur enzymatique au niveau du foie : par stimulation des microsomes hépatiques, elle accélère le catabolisme de tous les médicaments dégradés par un mécanisme oxydatif y compris le sien. C'est pourquoi de très nombreuses interactions médicamenteuses sont décrites.

Cet effet se manifeste biologiquement par une augmentation des transaminases et surtout de la gamma-GT.

- **Elimination** : la carbamazépine est éliminée à 70 % par le rein, essentiellement sous formes de métabolites, en particulier le 10,11-dihydroxyle. On retrouve dans les urines moins de 1 % de carbamazépine inchangée ; par ailleurs il existe une élimination biliaire(30 %).
- **Demi-vie** : elle est très variable d'un individu à l'autre. En monothérapie, elle est d'environ 24 à 26 heures. Elle peut être abaissée en cas d'association avec d'autres antiépileptiques inducteurs enzymatiques. La demi-vie diminue au cours du temps : plus le traitement est prolongé, plus la demi-vie diminue. Cette variabilité peut nécessiter l'adaptation du nombre de prises quotidiennes, en fonction de la durée du traitement.

2.3- Interférence de l'époxyde de la carbamazépine sur les techniques de dosage :

Le comportement des différentes techniques de dosage de la carbamazépine en présence de son métabolite 10-11 époxyde (actif pharmacologiquement) est variable selon la technique, mais globalement l'interférence est faible :

- la plupart des techniques croisent légèrement dans le dosage de la molécule mère : Abbott AxSym, Roche Intégra, Néphélométrie Beckman.
- La technique CEDIA (Roche Boehringer) ne croise pas du tout.
- le comportement des techniques Emit est étonnant : la technique sur analyseur MIRA ne présente aucune interférence avec l'époxyde. Par contre la technique EMIT sur ACA dose pratiquement entièrement ce métabolite de la carbamazépine.

3. - THEOPHYLLINE :

3.1- Structure :

La théophylline fait partie de la famille de xanthines, comme la caféine. C'est la 1,3-diméthylxanthine.

3.2- Métabolisme et pharmacocinétique :

La théophylline est parfaitement absorbée, la biodisponibilité est proche de 100%, elle est transportée liée aux protéines dans le plasma pour 60 % chez l'adulte (36 % chez le nouveau-né ou en cas de cirrhose). Le métabolisme est hépatique pour 90% avec élimination rénale sous forme d'acide 1,3 diméthylurique (35 à 45 %), d'acide 1-méthylurique (20 à 25 %) ou de méthylxanthine (20 à 35 %) et sous forme inchangée pour 10 % chez l'adulte et 35 à 50 % chez le nouveau-né. Chez le prématuré 10 % de la théophylline sont transformés en caféine et 4 % en théobromine.

Par ailleurs le métabolisme est influencé :

- par l'insuffisance hépatique ou cardiaque, par la fièvre (augmentation de la demi-vie)
- par le tabac (diminution de la demi-vie de 50 %)
- par certains médicaments

- Médicaments augmentant la théophyllinémie :

Allopurinol	Enoxacine	Viloxazine
Ciprofloxacine	Macrolides	

- Médicaments diminuant la théophyllinémie :

Barbituriques	Phénytoïne	Tous les inducteurs enzymatiques
---------------	------------	----------------------------------

- par l'âge ; en effet, la demi-vie de la théophylline est :

- . à 30 heures chez le prématuré
- . 24 heures chez le nouveau-né
- . 3 à 4 heures de 30 mois à 9 ans
- . 5 à 8 heures chez l'adulte non-fumeur
- . 4 heures chez l'adulte fumeur
- . 20 à 30 heures chez le cirrhotique

3.3- Interférence de l'acide 1.3 diméthylurique, métabolite inactif de la théophylline :

L'interférence du métabolite principal de la théophylline, l'acide 1 - 3 diméthylurique, à 10mg/l, a été testé au cours de notre programme 1999-2000.

Aucune interférence de ce métabolite n'a été détectée sur aucune des méthodologies testées.

Pour en savoir plus, voir les Cahiers de Formation Biologie Médicale - n°9 Décembre 97 et n°18 Janvier 2000

4.- ANTIDEPRESSEURS TRICYCLIQUES

Nous avons constaté sur les sérums GB et GD un pourcentage important de faux positifs en FPIA (contrôles du cycle 1999-2000)

	Neg	Douteux	Pos
GB	36,2 %	32,8 %	31,0 %
GD	25,0 %	42,9 %	32,1 %

La CARBAMAZEPINE présente dans les sérumsGB et GD a une structure chimique proche de celle des ANTIDEPRESSEURS TRICYCLIQUES. D'après le fournisseur ABBOTT, elle interfère dans le dépistage à des concentrations supérieures à 20 mg/l. Or, la concentration de Carbamazépine des sérums GB et GD est inférieure à 6 mg/l !!

Nous avons donc préparé une gamme sérique contenant de la Carbamazépine de 5 à 25 mg/l et nous l'avons testée avec la méthode Emit sur Cobas Mira et la méthode FPIA sur Ax Sym.

Les résultats sont les suivants :

Carbamazépine mg/l	EMIT	Ax Sym
5	Négatif	Douteux (signal = 27,4)
10	Négatif	Douteux (signal = 53,0)
15	Négatif	Positif (signal = 101,24)
20	Négatif	Positif (signal = 110,87)
25	Négatif	Positif (signal = 126,46)

Le fournisseur Abbott préconise de rendre un résultat négatif lorsque le signal est < 20 et positif lorsque le signal est supérieur à 100 avec une zone douteuse entre les 2.

Il est important d'avoir présent à l'esprit cette interférence de la Carbamazépine sur le dépistage des Antidépresseurs tricycliques en FPIA.