

Etude comparative de deux techniques de dosage de l'acide mycophénolique

Jebabli N., Charfi R., Gaïes E., El Jebari H., Ben Sassi M., Lakhal M., Klouz A., Salouage I., Trabelsi S.

Service de Pharmacologie Clinique, Centre National de Pharmacovigilance, 9, Avenue du Dr. Zouhaïer Essafi, 1006 Tunis, Tunisie

www.pharmacovigilance.rns.tn



INTRODUCTION

Le Mycophenolate mofetil est un promédicament de l'acide mycophénolique (AMP). L'AMP possède une fourchette thérapeutique étroite et sa pharmacocinétique est caractérisée par une variabilité inter et intra individuelle et une faible corrélation entre la concentration sanguine résiduelle et la dose administrée. Son suivi thérapeutique pharmacologique (STP) est devenu pratique courante après des greffes rénales, hépatiques et cardiaques.

BUT

L'objectif de cette étude était de comparer les résultats du dosage de l'AMP obtenus par CEDIA (Indiko®) et par la technique de référence la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à une détection UV pour vérifier l'existence ou non d'une différence significative entre les deux techniques afin de vérifier la possibilité du dosage de ce médicament par CEDIA pour pouvoir prendre en charge les malades rapidement.

MATERIEL ET METHODES

- Cette étude a été réalisée au Service de Pharmacologie Clinique, au Centre National de Pharmacovigilance, durant une période de six mois allant d'août 2014 à Janvier 2015.
- Cent quatorze échantillons issus de 114 patients adultes transplantés rénaux ont été analysés selon les deux méthodes.
- Le dosage de l'AMP est réalisé sur du plasma. Les prélèvements sanguins sont effectués sur tubes héparinés ou EDTA (Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique). Le prélèvement se fait le matin à T0 juste avant la prise de l'AMP.
- Le dosage de l'AMP a été effectué par deux techniques :
 - Méthode CLHP (chromatographie Liquide à Haute Performance) choisi comme technique de référence.
 - Méthode CEDIA (Cloned enzyme donorimmunoassay) par Indiko®.
- La fourchette thérapeutique de l'AMP varie de 1-3,5 µg/mL.
- L'analyse statistique c'est fait par le Logiciel "Graphpad" cette analyse a porté sur la détermination des paramètres de comparaison qui sont le coefficient de corrélation, la droite de régression et le test Anova (un facteur, série appariée).

RESULTATS ET DISCUSSION

- Les concentrations trouvées ont varié de 0 à 14,61 µg/mL. Cette répartition était faite en prenant les valeurs obtenues par l'HPLC comme valeurs de référence.
- Les concentrations d'AMP ont été sur-estimées par la méthode CEDIA par rapport à la méthode HPLC-UV avec un biais de 37 %.
- Les études statistiques ont montré que les deux techniques sont répétables et reproductibles.
- L'estimation de la droite de régression (figure 1) par l'étude de la corrélation entre la méthode HPLC par rapport à la méthode CEDIA donne l'équation suivante:

$$\text{AMP}_{\text{CEDIA}} = 1,558 \text{AMP}_{\text{HPLC}} + 0,49 \text{ (en } \mu\text{g/mL)}$$

- la corrélation est acceptable entre les deux méthodes avec un coefficient de corrélation $r = 0,86$.
- L'étude statistique en Anova 1 facteur, séries appariées montre une différence non significative entre les deux techniques avec $p = 0,47$ ($p > 5\%$)

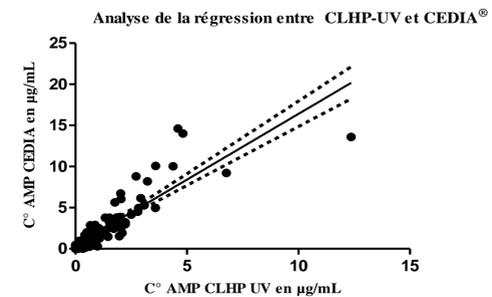


Figure 1 : Régression linéaire entre les concentrations d'AMP déterminées par CEDIA et HPLC-UV sur des prélèvements provenant de patients transplantés rénaux ($n = 114$)

DISCUSSION

- Les résultats de notre étude ont montré une concordance entre les deux méthodes, avec une surestimation des concentrations en AMP par la technique CEDIA.
- Ces résultats sont en accord avec ceux précédemment publiés. En effet de nombreux auteurs ont montré que les méthodes immunologiques surestimaient les concentrations d'AMP par rapport à celles obtenues par HPLC, de 12 % selon Vogl et al. [2], 11 % selon Hosotsubo et al. [3], 18,8 % selon Beal et al. [4] et jusqu'à 35 % selon Irtan et al. [1]
- Cette surestimation serait due à une réaction croisée entre les anticorps de détection utilisés dans la méthode EMIT et l'AMP-acyl-glucuronate (AMPaG), métabolite actif de l'AMP.
- les méthodes immunologiques présentent le gros avantage d'être rapides car entièrement automatisables et ne nécessitant pas de phase préliminaire d'extraction. Le résultat peut donc être obtenu rapidement dans les cas de surdosage. Leur spécificité et leur sensibilité sont bonnes.
- L'étape chromatographique, nécessite au préalable une phase d'extraction de l'échantillon, rendant ces techniques longues. Elles nécessitent par ailleurs un équipement particulier réservé à certains laboratoires. Les méthodes chromatographiques sont très sensibles et spécifiques, pouvant permettre le dosage des métabolites.
- L'objectif de cette étude était de comparer les résultats du dosage de l'AMP obtenus par HPLC et par CEDIA afin de vérifier la switchabilité de ces 2 méthodes.
- Les études statistiques ont montré que les deux techniques sont répétables et reproductibles. La comparaison des résultats trouvés par les deux techniques a montré une bonne corrélation entre les résultats trouvés par l'CLHP et les résultats trouvés par CEDIA ($r = 0,86$), dans la littérature ce coefficient était variable de 0,83 à 0,97.

CONCLUSION

En conclusion la technique CEDIA plus rapide a été adoptée pour le STP chez les patients traités par ce médicament.

REFERENCES

1. Irtan S, Azougagh S, Monchaud C, Popon M, Baudouin V, Jacqz-Aigrain E. Comparison of high performance liquid chromatography and enzyme multiplied immunoassay technique to monitor mycophenolic acid in pediatric renal recipients. *Pediatric Nephrology* 2008;23:1859-65.
2. Vogl M, Weigel G, Seebacher G, Griesmacher A, Laufer G, Müller MM. Evaluation of the EMIT Mycophenolic Acid Assay from Dade Behring. *Ther Drug Monit.* 1999; 21(6): 638-643.
3. Hosotsubo H, Takahara S, Imamura R, Kyakuno M, Tanaka T, Yazawa K, et al. Analytic validation of the enzyme multiplied immunoassay technique for the determination of mycophenolic acid in plasma from renal transplant recipients compared with a high-performance liquid chromatographic assay. *Ther Drug Monit.* 2001; 23(6): 669-674.
4. Beal JL, Jones CE, Taylor PJ, Tett SE. Evaluation of an immunoassay (EMIT) for mycophenolic acid in plasma from renal transplant recipients compared with a high-performance liquid chromatography assay. *Ther Drug Monit.* 1998; 20(6): 685-690.