

Monitoramento terapêutico de antibióticos por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem utilizando sangue capilar em DBS - *Dried Blood Spots*: Validação Analítica.

Douglas Marinho de Matos¹ e Alexandre Prehn Zavascki²

¹ Faculdade de Medicina UFRGS; ² Departamento de Medicina interna, Faculdade de Medicina UFRGS

INTRODUÇÃO

A dosagem da vancomicina plasmática é essencial na prevenção de resistência bacteriana e toxicidade medicamentosa. O método de coleta por DBS (*Dried Blood Spots* ou mancha de sangue seco em papel), em relação à venopunção, é menos invasivo, mais estável e precisa de menor volume de sangue. Entretanto, essa técnica de coleta requer análise mais sensível, obtida através do método de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial (LC-MS/MS).

OBJETIVO

- ✓ Validação da dosagem de vancomicina em plasma sanguíneo pela técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em tandem.
- ✓ Avaliar a estabilidade das amostras coletadas por DBS para a vancomicina.

METODOLOGIA

Validação Analítica

Utilização do padrão da kanamicina 20 µg/mL em ácido tricloroacético 10% com coluna mantida à 40 °C

A eluição ocorreu em gradiente na fase móvel com vazão de 0,4 mL/min. A detecção foi realizada por ionização *electrospray* no modo positivo

Validação por linearidade, precisão, exatidão, sensibilidade, seletividade e eficiência da extração

Validação Clínica

52 pacientes do HCPA

≥18 anos em uso de vancomicina

Coletas por capilaridade

Coletas por venopunção

Mesmos pacientes coletados em horários iguais

Material colocado em DBS

Material colocado em tubo heparinizado

Método de armazenamento

Análise por LC-MS/MS

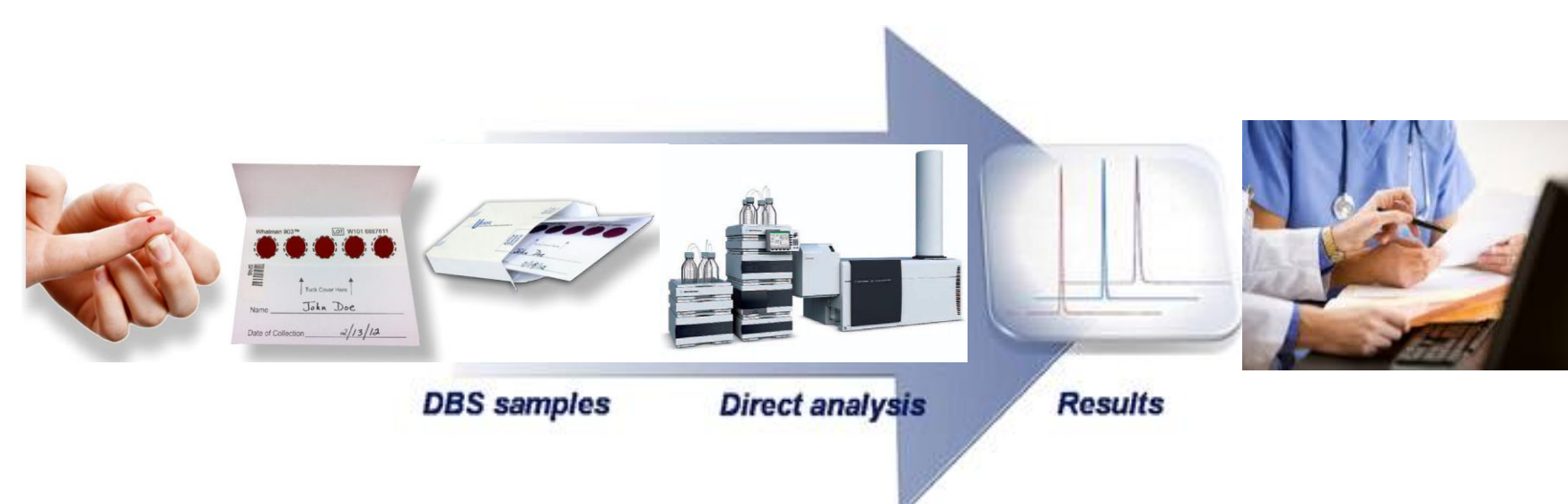
Análise por LC-MS/MS

Método de análise

LC-MS/MS: Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial
DBS: *Dried Blood Spots* ou mancha de sangue seco em papel

RESULTADOS

- ✓ A duração da corrida cromatográfica foi de 10 minutos.
- ✓ O método apresentou-se linear de 1 a 100 µg/mL ($r > 0,99$).
- ✓ A precisão apresentou CV% intra e inter ensaio entre 3-8 e 3-6, respectivamente, e a exatidão esteve entre 96-107%.
- ✓ O teste de seletividade revelou a não ocorrência de interferentes nos tempos de retenção dos analitos.



CONCLUSÃO

- ✓ **Validação analítica:** as técnicas de análise da vancomicina em plasma e DBS por LC-MS/MS foram validadas.
- ✓ **Validação clínica:** a comparação das concentrações de vancomicina no plasma e em DBS ainda estão em andamento.

Bibliografia:

Elbarby F. Vancomycin Dosing and Monitoring: Critical Evaluation of the Current Practice. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* (2018) 43:259–268 <https://doi.org/10.1007/s13318-017-0456-4>.

Peyko V, Friedman-Jakubovics M. Novel approach to vancomycin level monitoring: Impact of a multidisciplinary monitoring system on timing of vancomycin levels. *Am J Health Syst Pharm*. 2018 Feb 1;75(3):121-126. doi: 10.2146/ajhp160760.

Knippenberg B, Page-Sharp M, Salman S, et al. Validation and Application of a Dried Blood Spot Assay for Biofilm-Active Antibiotics Commonly Used for Treatment of Prosthetic Implant Infections. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2016;60(8):4940-4955. doi:10.1128/AAC.00756-16.

Stoessel AM, Hale CM, Seabury RW, Miller CD, Steele JM. The Impact of AUC-Based Monitoring on Pharmacist-Directed Vancomycin Dose Adjustments in Complicated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *J Pharm Pract*. 2018 Jan 1;897190018764564. doi: 10.1177/0897190018764564.

Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer JC, Moellering R Jr, Craig W, Billeter M, Dalovisio JR, Levine DP. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm*. 2009 Jan 1;66(1):82-98. doi: 10.2146/ajhp080434.

Zhi-Kang Ye, Can Li, Suo-Di Zhai. Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring of Vancomycin: A Systematic Review. *PLoS One*. 2014; 9(6): e99044. doi: 10.1371/journal.pone.0099044.

Antunes MV, Charão MF, Linden R. Dried blood spots analysis with mass spectrometry: Potentials and pitfalls in therapeutic drug monitoring. *Clin Biochem*. 2016 Sep;49(13-14):1035-46. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.05.004.

Zakaria R, Allen KJ, Koplin JJ, Roche P, Greaves RF. Advantages and Challenges of Dried Blood Spot Analysis by Mass Spectrometry Across the Total Testing Process. *EJIFCC*. 2016;27(4):288-317.