



Evento	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2018
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Monitoramento Terapêutico de Antibióticos por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em tandem utilizando Sangue Capilar em DBS - Dried Blood Spots (mancha de sangue seco em papel): Validação Analítica
Autor	DOUGLAS MARINHO DE MATOS
Orientador	ALEXANDRE PREHN ZAVASCKI

Monitoramento Terapêutico de Antibióticos por Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em tandem utilizando Sangue Capilar em DBS - Dried Blood Spots (mancha de sangue seco em papel): Validação Analítica.

Douglas M. de Matos, Alexandre P. Zavascki – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS.

Introdução: O monitoramento terapêutico da vancomicina utiliza como ferramenta a dosagem do nível plasmático do paciente, sendo essencial na prevenção do surgimento de resistência microbiana e na redução de efeitos adversos como nefrotoxicidade. O método de coleta por DBS (Dried Blood Spots ou mancha de sangue seco em papel) apresenta vantagens em relação à coleta por venopunção por ser menos invasivo, mais estável e por precisar de menor volume de sangue. Por oferecer menor quantidade de amostra, 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 principal: Validar a metodologia de DBS através da análise por LC-MS/MS. **Objetivos específicos:** determinar as concentrações no pico e no vale da vancomicina no estado de equilíbrio através da técnica de LC-MS/MS coletadas por venopunção e por capilaridade, avaliar a estabilidade das amostras coletadas por DBS para a vancomicina, avaliar a influência do hematócrito nas concentrações obtidas por DBS, comparar as concentrações obtidas por DBS e por venopunção coletadas no mesmo horário.

Metodologia: A validação analítica foi realizada no laboratório de toxicologia da Universidade FeeVale. O padrão interno utilizado foi kanamicina 20 µg/mL em ácido tricloroacético 10%. A coluna utilizada foi C18 HyPURITY AQUASTAR (150×3 mm, tamanho partícula 5 µm), mantida à 40 °C. A eluição ocorreu em gradiente, com fase móvel composta de ácido fórmico 0,1% em água e acetonitrila contendo 0,1% de ácido fórmico, com vazão de 0,4 mL/min. A detecção foi realizada por ionização electrospray no modo positivo. As transições monitoradas foram (m/z) 724,8→100, 143,8 e 241,7 para vancomicina e 353,2→111,3, 158 e 179,1 para o padrão interno. O método foi validado de acordo com os parâmetros, linearidade, precisão, exatidão, sensibilidade, seletividade e eficiência da extração. Para a validação clínica, foram coletadas 52 amostras de DBS e 52 amostras de plasma no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) a partir de pacientes maiores de 18 anos em uso de vancomicina por qualquer indicação. Todas as amostras foram encaminhadas para o laboratório de toxicologia da Universidade FeeVale para dosagem da vancomicina através do método de LC-MS/MS e para posterior comparação dos resultados pelo método estatístico de regressão linear.

Validação analítica: A duração da corrida cromatográfica foi de 10 minutos, com tempos de retenção de 3,7 min para a vancomicina e para o padrão interno. O método apresentou-se linear entre as concentrações de 1 a 100 µg/mL ($r > 0,99$). A precisão apresentou CV% intra e inter ensaio entre 3-8, e a exatidão esteve entre 96-107%. O teste de seletividade revelou a não ocorrência de interferentes nos tempos de retenção dos analitos.

Conclusões preliminares: Foi desenvolvido e validado um método para a determinação de vancomicina com elevada sensibilidade e especificidade, com desempenho analítico adequado para uso clínico. As amostras foram preparadas por precipitação de proteínas, que demonstrou ser simples, rápida e de baixo custo. As análises de comparação entre DBS e sangue venoso estão em andamento.