

**UNIVERSIDADE FEEVALE**

**MESTRADO ACADÊMICO EM TOXICOLOGIA E ANÁLISES TOXICOLÓGICAS**

Monitoramento terapêutico de meropenem empregando microamostras de plasma  
e sangue seco em papel obtidas a partir de punções capilares

Maria Amélia de Castilhos Busato

Linha de Pesquisa: Toxicologia analítica e análises toxicológicas

Orientador: Prof. Dr. Rafael Linden

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marina Venzon Antunes

Novo Hamburgo, março de 2023.

**MARIA AMÉLIA DE CASTILHOS BUSATO**

**MONITORAMENTO TERAPÊUTICO DE MEROPENEM EMPREGANDO  
MICROAMOSTRAS DE PLASMA E SANGUE SECO EM PAPEL  
OBTIDAS APARTIR DE PUNÇÕES CAPILARES**

Dissertação apresentada para  
obtenção do GRAU DE MESTRE  
em Toxicologia e Análises  
Toxicológicas pela Universidade  
Feevale.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Linden

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marina Venzon Antunes

Novo Hamburgo, março de 2023.

---

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

---

Busato, Maria Amélia de Castilhos

Monitoramento terapêutico de meropenem empregando microamostras de plasma e sangue seco em papel obtidas apartir de punções capilares/ Maria Amélia de Castilhos Busato – 2023.

76 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Prof. Dr. Rafael Linden.

Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marina Venzon Antunes.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Feevale – Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas, Novo Hamburgo, 2023.

1. Meropenem. 2. Monitoramento terapêutico de fármacos. 3. UTI. 4. Microamostras de plasma. I. Linden, Rafael, orient. II. Antunes, Marina Venzon, coorient. III Título.

CDU 615.9

CDD 615

---

Bibliotecária responsável  
Lizete Flores da Silva CRB10/2724

**MARIA AMÉLIA DE CASTILHOS BUSATO**

Dissertação intitulada *Monitoramento terapêutico de meropenem empregando microamostras de plasma e sangue seco em papel obtidas a partir de punções capilares* apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Universidade Feevale, como requisito necessário para obtenção do grau de mestre.

Aprovado por:

---

Orientador: Prof. Dr. Rafael Linden

Universidade Feevale

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mariele Feiffer Charão

Banca Examinadora – Universidade Feevale

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Siomara Hahn

Banca Examinadora – Universidade Passo Fundo

Novo Hamburgo, março de 2023.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as pessoas que passaram pela pandemia do COVID-19 mantendo a humanidade em seus corações. Dedico aos profissionais da saúde, que superaram as expectativas e colocaram as necessidades dos outros à frente das suas. Dedico principalmente aos pacientes e familiares que, em meio a luta contra a sua doença, em meio as incertezas e dores que os rodeavam, permitiram que esta pesquisa acontecesse, cedendo pequenas doses de seu precioso sangue. Dedico a minha querida família.

*“Tudo o que o dinheiro compra é barato...”*

*M.V.M.C*

## AGRADECIMENTO

Agradeço a Universidade Feevale por ser minha fonte de conhecimento. Ao CNPq e ao Hospital Unimed Vale dos Sinos pelo apoio nesta caminhada que culmina na realização do sonho de contribuir para a ciência. Aos profissionais da farmácia e da UTI do hospital Unimed, sendo fundamentais para o sucesso deste trabalho.

Agradeço a minha família, meu parceiro e esposo Maicon, meus irmãos Francisco Arnaldo, Antônio Remy e Maria Vitória (*in memorian*); aos meus sogros, cunhados, afilhados/sobrinhos... Vocês são um pilar de sustentação máxima na minha vida. Cada um de vocês, da sua forma, fizeram e fazem diferença no meu olhar para o mundo, e sou muito grata por ter meus horizontes mais abertos e floridos com vocês no meu caminho.

Em especial cito meus pais, grandes cientistas da vida. Inovadores! Na tristeza inventam palavras que afagam a alma; na felicidade criam formas de eternizar momentos; patentearam uma incrível tecnologia de união, em que todos os membros podem contar com eles, e uns com os outros; no medo e na dúvida nos capacitaram a novas metodologias de superação, muitas vezes com o desenvolvimento da fé.

Por falar na fé, agradeço a Deus, pois quanto mais me desenvolvo na ciência, quanto mais vejo a evolução nas pesquisas, mais fé Nele eu tenho, e só posso dizer obrigada, obrigada e obrigada senhor!

Ainda agradecendo a Deus, agradeço pelas pessoas que Ele me trouxe durante este trabalho: meus queridíssimos amigos do laboratório! Lilian, Roberta, Amanda, Marcos, Mari, Laura e Gigi, obrigada pela amizade, pela ajuda, pelo apoio incondicional! Obrigada por tudo, sempre!

Por último, mas com grande importância, agradeço ao meu exemplar orientador Rafael Linden. Pessoa incrível, justa, inteligente e bondosa. Um ser humano que prima o desenvolvimento da ciência, o avanço da tecnologia, mas com uma generosidade e humildade singulares. Agradeço todo o conhecimento compartilhado, toda a paciência desprendida e toda a confiança depositada. Eterna gratidão!

## RESUMO

O meropenem é um antimicrobiano caracterizado como bactericida, utilizando especialmente em infecções graves, particularmente em pacientes hospitalizados em unidades de terapia intensiva (UTI). O parâmetro farmacodinâmico/farmacocinético (PK/PD) melhor correlacionado com eficácia dos carbapenêmicos é a fração do tempo em que a concentração do fármaco permanece acima da concentração inibitória mínima (MIC), que deve ser superior a 100%. Nesta dissertação, foram desenvolvidos e validados dois ensaios para a quantificação de meropenem por cromatografia líquida associada a espectrometria de massas (LC-MS/MS), empregando microamostras de plasma e de sangue seco em papel (*dried blood spots*, DBS). As fases móveis foram compostas de água e acetonitrila com 0,1% de ácido fórmico. A separação cromatográfica foi realizada com uma coluna Acquity C8 (100 x 2,1 mm, d.p. 1,7 µm). O tempo de corrida cromatográfica foi de 7,5 min, com retenção em 3,48 min para o meropenem e 4,27 mins para o padrão interno (PI) ciprofloxacino-d<sub>8</sub>. O método foi linear para os intervalos de 0,5 a 50 µg/mL e não foram identificados interferentes em amostras brancas. O efeito matriz em ambas as amostras foi compensado adequadamente pelo PI. Nas amostras de plasma a precisão inter-ensaio e intra-ensaio variou de 3,8 a 7,9% e de 2,7 a 5,5%, respectivamente, enquanto a exatidão apresentou valores entre 91,7 e 100,6%. O rendimento de extração (RE) em amostras de plasma foi 87,0-92,4 %. Em amostras de DBS, a precisão inter-ensaio e intra-ensaio variaram de 5,2 a 12,9 % e de 6,4 a 12,5%, respectivamente, enquanto a exatidão apresentou valores entre 97,4 e 105,6 %. O rendimento de extração foi 73,8-75%. O hematócrito teve efeito limitado sobre a exatidão e a eficiência da extração. O ensaio foi aplicado em 15 amostras clínicas de plasma venoso e capilar e em 5 amostras de DBS. As concentrações em plasma venoso e capilar foram altamente correlacionadas, assim como as concentrações em plasma venoso e DBS. Estudos complementares incluindo um número maior de pacientes são necessários para avaliar a possibilidade de uso das matrizes alternativas para a determinação de meropenem em situações clínicas.

**Palavras-chave:** Meropenem; monitoramento terapêutico de fármacos; UTI; microamostras de plasma; DBS; LC-MS/MS.

## ABSTRACT

Meropenem is a bactericidal antimicrobial drug, used especially in severe infections, particularly in hospitalized patients in intensive care units (ICUs). The pharmacodynamic/pharmacokinetic (PK/PD) parameter most correlated with the efficacy of carbapenems is the fraction of time during which the drug concentration remains above the minimum inhibitory concentration (MIC), which should be greater than 100%. In this dissertation, two assays were developed and validated for the quantification of meropenem by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS), using microsamples of plasma and dried blood spots (DBS). The mobile phases were composed of water and acetonitrile with 0.1% formic acid. Chromatographic separation was performed with an Acquity C8 column (100 x 2.1 mm, d.p. 1.7  $\mu$ m). The chromatographic run time was 7.5 min, with retention at 3.48 min for meropenem and 4.27 min for the internal standard (IS) ciprofloxacin-d8. The method was linear in the ranges of 0.5 to 50  $\mu$ g/mL and no interferences were identified in blank samples. The matrix effect in both matrices was adequately compensated for by the IS. In plasma samples, inter-assay and intra-assay precision ranged from 3.8 to 7.9% and 2.7 to 5.5%, respectively, while accuracy values ranged from 91.7 to 100.6%. The extraction yield (EY) in plasma samples was 87.0-92.4%. In DBS samples, inter-assay and intra-assay precision ranged from 5.2 to 12.9% and 6.4 to 12.5%, respectively, while accuracy values ranged from 97.4 to 105.6%. The extraction yield was 73.8-75%. Hematocrit had a limited effect on accuracy and extraction efficiency. The assay was applied to 15 clinical samples of venous and capillary plasma and 5 DBS samples. The concentrations in venous and capillary plasma were highly correlated, as were the concentrations in venous plasma and DBS. Further studies, including a larger number of patients, are necessary to evaluate the possibility of using the evaluated alternative matrices for the determination of meropenem in clinical settings.

**Keywords:** Meropenem; therapeutic drug monitoring; ICU; plasma microsamples; DBS; LC-MS/MS.