



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

PROYECTO DE SERICIO SOCIAL

TÍTULO: “Determinación de vancomicina en muestras biológicas para su monitoreo terapéutico”

LUGAR DE REALIZACIÓN: CENTRO MÉDICO NAVAL DE LA SECRETARÍA DE MARINA

PRESENTA: LUIS ANTONIO ROCHA ROSAS

MATRÍCULA: 2193070158

ASESOR INTERNO: Dra. Luz María Melgoza Contreras

Luz María Melgoza C.

ASESOR EXTERNO: Mtro. en Ciencias Forenses Alicai Alejandro Morales Navarro

Fecha de inicio: 11/12/2023

Fecha de término: 11/06/2024

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	2
Objetivo General.....	2
Objetivos específicos.....	2
ANTECEDENTES.....	3
METODOLOGÍA.....	4
Materiales.....	6
Métodos.....	6
Identificación de vancomicina y su estándar interno.....	6
Identificación y comparación de concomitantes.....	7
Curvas de calibración.....	7
Extracción de vancomicina y estándar interno.....	8
RESULTADOS.....	9
CONCLUSIÓN.....	12
REFERENCIAS.....	13

INTRODUCCIÓN

El monitoreo terapéutico de fármacos es un proceso crítico en el manejo clínico de pacientes, especialmente en aquellos tratamientos que requieren una dosificación precisa y personalizada, como es el caso de la vancomicina. Este antibiótico glucopéptido de amplio espectro es utilizado extensamente en la práctica médica para tratar infecciones graves causadas por bacterias Grampositivas, principalmente por bacterias resistentes a otros antibióticos, como el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA). Debido a la toxicidad potencial y las variaciones en la farmacocinética entre diferentes pacientes, es crucial monitorear sus niveles en el cuerpo para asegurar una eficacia terapéutica adecuada y minimizar los efectos adversos. (MSD Manual, s.f.) (Laurent, F., 2005)

El presente trabajo de investigación se enfoca en la "Determinación de vancomicina en muestras biológicas para su monitoreo terapéutico". Este estudio se llevó a cabo en el Centro Médico Naval de la Secretaría de Marina, donde se aplicaron técnicas avanzadas de cromatografía líquida de ultra alta eficiencia (UPLC) para cuantificar con precisión las concentraciones de vancomicina en las muestras biológicas de los pacientes. La elección de esta metodología se fundamenta en la necesidad de obtener datos altamente confiables que permitan a los profesionales de la salud ajustar las dosis de vancomicina de manera precisa, optimizando así el tratamiento y reduciendo el riesgo de toxicidad.

El proyecto también representa una valiosa oportunidad de aplicar conocimientos teóricos en un entorno clínico real, lo que contribuye significativamente al desarrollo profesional en el campo de la farmacocinética clínica. La integración de estas habilidades prácticas con la teoría proporcionará una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones en la monitorización terapéutica de medicamentos.

JUSTIFICACIÓN

El presente proyecto, gentilmente asignado por el área de Farmacocinética Clínica del Centro Médico Naval de la Secretaría de Marina, constituye una invaluable oportunidad para ampliar y aplicar mis conocimientos en el campo de la farmacocinética, especialmente en relación con el uso de equipos cromatográficos, así como en el desarrollo y validación de métodos analíticos en el ámbito hospitalario. Este proyecto tiene como objetivo principal cuantificar las concentraciones de vancomicina en sangre de pacientes con diversas características que pueden influir en el metabolismo de este medicamento, ya que, este compuesto presenta una

cantidad importante de reacciones adversas en el Centro Médico Naval de la Secretaría de Marina, por lo que realizar un seguimiento farmacoterapéutico basado en las concentraciones de vancomicina en matriz biológica es un objetivo notable para la institución que brindará abundantes beneficios que van desde la correcta prescripción de este antibiótico en pacientes ambulatorios, hasta la prevención de reacciones adversas en pacientes de todas las áreas que lo requieran en cualquier momento.

En el transcurso de este proyecto, tendré la oportunidad de aplicar y perfeccionar mis habilidades en el manejo de equipos cromatográficos, una competencia técnica de gran relevancia en el ámbito de la farmacocinética. La utilización de cromatografía para cuantificar las concentraciones de vancomicina en muestras biológicas permitirá obtener resultados precisos y reproducibles, contribuyendo así a una toma de decisiones clínicas más fundamentada. La participación en el desarrollo y validación de métodos analíticos implica establecer la robustez y fiabilidad de las técnicas empleadas para garantizar la exactitud y la reproducibilidad de los resultados. La validación de métodos analíticos es esencial en la obtención de datos confiables y constituye una destreza técnica que contribuirá significativamente a mi formación profesional.

La realización de este proyecto en el Centro Médico Naval representa una oportunidad única para integrar conocimientos teóricos con habilidades prácticas en un entorno clínico especializado. Contribuir al monitoreo y ajuste de la terapia con vancomicina es una responsabilidad crucial que, además de beneficiar a los pacientes, me permitirá consolidar mi formación académica y profesional en el campo de la farmacocinética.

OBJETIVOS

Objetivo General

Cuantificar con precisión las concentraciones de vancomicina en pacientes para contribuir al monitoreo de terapias, evitando efectos adversos y consolidando conocimientos teóricos con experiencia práctica en farmacocinética clínica.

Objetivos específicos

- Adquirir destrezas específicas en el manejo de equipos cromatográficos para garantizar una cuantificación precisa de las concentraciones de vancomicina en las muestras biológicas de los pacientes.

- Aplicar los conocimientos teóricos en farmacocinética clínica para realizar contribuciones efectivas al monitoreo terapéutico de pacientes, minimizando riesgos de efectos adversos y optimizando la terapia con vancomicina.
- Lograr una integración exitosa en el entorno clínico del Centro Médico Naval, aprovechando la oportunidad para consolidar la teoría aprendida con la experiencia práctica, enriqueciendo así la formación profesional.

ANTECEDENTES

Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC): es una técnica de química analítica que tiene la capacidad de separar, identificar y cuantificar los compuestos presentes en cualquier muestra que se pueda disolver en un líquido. Hoy en día, los compuestos en concentraciones de trazas tan bajas como partes por trillón (ppt) se pueden identificar fácilmente. La HPLC se puede aplicar a prácticamente cualquier muestra, como productos farmacéuticos, alimentarios, nutracéuticos, cosméticos, matrices ambientales, muestras forenses y productos químicos industriales. (Waters Corporation, s.f.)

Fase estacionaria: material que permanece dentro de la columna cromatográfica durante la cromatografía y que retiene algún componente de la muestra, posee una gran área superficial y puede ser un sólido o un líquido dispuesto sobre un sólido que actúa como soporte. (Sgariglia, M. A., et. al., 2010)

Fase móvil: es un fluido que puede ser líquido, gas o fluido supercrítico que se usa como portador de la mezcla y que se hace pasar a través de la columna cromatográfica y la fase estacionaria. (Sgariglia, M. A., et. al., 2010)

Tiempo de retención: tiempo entre la inyección de las muestras y la señal de picos máxima del analito en un cromatograma. (Thermo Fisher Scientific, s.f.)

Separación de los compuestos: la separación física de los compuestos ocurre en la fase estacionaria de la columna. Después de la elución de la columna, los componentes separados de la muestra viajan hasta el detector. (Thermo Fisher Scientific, s.f.)

Medicamentos concomitantes: corresponde a otros medicamentos que también esté utilizando el paciente durante el uso del medicamento sospechoso. (Laboratorios Chile, s.f.)

Estándar interno: un estándar interno es una sustancia química añadida en cantidades constantes a las muestras, blancos y estándares en un experimento analítico. Este estándar actúa como referencia interna para compensar posibles variaciones en el proceso de análisis, tales como pérdidas durante la preparación de la muestra, fluctuaciones en la respuesta del detector, o variaciones en el volumen de inyección. Al comparar la respuesta del analito con la del estándar interno, se mejora la precisión y exactitud de la cuantificación, permitiendo resultados más fiables. (Skoog, D., *et. al.*, 2014).

Sustancia de referencia: es un material con propiedades físicas, químicas o biológicas bien definidas y conocidas, utilizado como patrón para calibrar instrumentos, evaluar un método analítico, o asegurar la calidad de los resultados en un análisis. Estas sustancias son esenciales para garantizar la exactitud y precisión en las mediciones y suelen estar certificadas por organismos oficiales. Se utilizan en la validación de métodos analíticos y en la verificación de su desempeño a lo largo del tiempo. (I.S.O., 2014)

METODOLOGÍA

El presente proyecto de investigación consta de la capacitación, uso y manejo del equipo UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) de la empresa Waters para la identificación, separación y cuantificación de vancomicina y sus concomitantes en matriz biológica por medio de extracciones con solventes orgánicos y otros compuestos precipitadores de proteínas.

Durante la primera etapa de estancia en el Centro Médico Naval de la Secretaría de Marina se procuró la capacitación para el uso y manejo del equipo UPLC por parte de un capacitador externo de la empresa *Waters*. Posteriormente, el asesor externo colaboró activamente con amplia disposición de enseñanza de técnicas para el empleo del equipo. Como introducción a la práctica, se aprendió a encender el equipo de UPLC e iniciar sesión en el ordenador de manera adecuada, ya que el cromatógrafo podría presentar variaciones si no se siguen los procedimientos pertinentes desde su encendido e inicio de sesión.

El asesor externo se encargó de la preparación de las sustancias de referencia ya que son compuestos que deben manejarse con mucha precaución para asegurar la integridad física de quien los manipula, por otro lado, el costo de estos es muy elevado y se debe tener asesoría previa para evitar pérdidas. Inicialmente se mostró el método de preparación de las sustancias de referencia con Vancomicina de referencia. El asesor externo explicó la información previa necesaria para la preparación de estas sustancias, ya que no todos los

compuestos son solubles ni compatibles con ciertos solventes. Por lo tanto, se indagó sobre las propiedades y la pureza de la vancomicina de referencia en artículos de investigación y bases de datos de compuestos como lo es *DrugBank* y *PubMed*.

Por otro lado, el asesor externo mostró como preparar disoluciones pertinentes para que el detector del equipo UPLC realizara el análisis del analito de interés. Algunas inyecciones de prueba se llevaron a cabo para observar el funcionamiento del sistema y así, tener una idea más clara de la operación de una cromatografía de ultra alta eficiencia. Aunado a esto, se explicaron diversas diferencias generales que existen en las columnas cromatográficas de un UPLC y de un HPLC convencional, ya que en un UPLC las columnas son más cortas y estrechas, por lo que el analito de interés es detectado más rápido que con una columna más larga de HPLC convencional, por otro lado, las columnas de UPLC presentan mayores presiones dentro de ellas, pero con mejor resolución.

En esta primera fase se logró una mejor comprensión del funcionamiento del equipo UPLC, suficiente para el manejo básico de éste, sabiendo realizar parcialmente análisis isocráticos, secuencias cromatográficas, gradientes y análisis de resultados de corridas cromatográficas.

El asesor externo propuso desarrollar un método de identificación de vancomicina y sus concomitantes por medio de la cromatografía líquida de ultra alto rendimiento. Esto fue gracias a que el área de Terapia Intermedia nos proporcionó los datos de los concomitantes más utilizados con vancomicina en pacientes dentro de esta área.

Medicamentos concomitantes

- | | | |
|-------------------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1. Ácido tranexámico | 15. Diazepam | 30. Metronidazol |
| 2. Alfadornasa | 16. Dobutamina | 31. Midazolam |
| 3. Amikacina | 17. Dopamina | 32. Milrinona |
| 4. Ampicilina | 18. Epinefrina racémica | 33. Norepinefrina |
| 5. Anfotericina B | 19. Etamsilato | 34. Palivizumab |
| 6. Bromuro de ipratropio/salbutamol | 20. Fentanilo | 35. Paracetamol |
| 7. Bumetadina | 21. Fenitoína sódica | 36. Piperacilina-Tazobactam |
| 8. Buprenorfina | 22. Fitomenadiona | 37. Prostaglandinas |
| 9. Cefepima | 23. Fluconazol | 38. Budesonida |
| 10. Cefotaxina | 24. Furosemida | 39. Salbutamol en aerosol |
| 11. Ceftriaxona | 25. Hidralazina | 40. Salbutamol en solución |
| 12. Citrato de cafeína | 26. Ketorolaco | 41. Vasopresina |
| 13. Curosurf | 27. Levetiracetam | |
| 14. Dexmedetomidina | 28. Lidocaína 2% | |
| | 29. Meropenem | |

42. Bromuro de
vecuronio

43. Ketoprofeno
44. Metamizol

45. Tramadol

Materiales

Se utilizan equipos tales como un UPLC *Aquity* de la empresa *Waters*, balanza analítica *RADWAG*, congeladores y ultra-congeladores, centrifugadoras de piso y de mesa, baño seco termoblock, agitador vórtex; instrumentos tales como micropipetas *Mettler Toledo* y columnas cromatográficas *Waters*; reactivos, sustancias de referencia, medicamentos y fases móviles. Todos lo mencionado anteriormente fue proporcionado por las áreas de Farmacocinética Clínica, Farmacotecnia, Patología y Biología Molecular.

Métodos

Identificación de vancomicina y su estándar interno.

Dentro del laboratorio de Farmacocinética Clínica se encuentran diversas sustancias de referencia como fluconazol, metamizol sódico, vancomicina, claritromicina y tacrolimus. De alguna de estas sustancias se debe elegir una para ser el estándar interno, por lo tanto, se analizan cada una de ellas por medio del equipo UPLC para determinar cuál presenta una mejor respuesta para el tipo de detector con el que se cuenta. Después de utilizar los solventes con los que se cuenta dentro del laboratorio con cada una de las sustancias de referencia, respectivamente, se determina que utilizar acetonitrilo (ACN) en una proporción del 100% para disolver claritromicina de referencia muestra la mejor respuesta, por lo que este último se elige como estándar interno. De acuerdo al logP de 1.1 de la vancomicina de referencia, se determina que utilizar agua ultrapura (no desgasificada) como solvente es la mejor opción.

Se decide realizar una disolución 1/10 de la solución de 1mg/mL de vancomicina para que ésta pueda ser analizada por el UPLC a una concentración menor. La inyección inicial se realiza con 50% agua ultrapura y 50% acetonitrilo. Posteriormente se realizan algunas inyecciones más de esta misma disolución para corroborar que los resultados sean confiables, más tarde, se inyectó varias veces la misma muestra a diferentes proporciones de fase móvil, por lo que con anterioridad se realizó un equilibrio del sistema y de la columna para evitar variaciones o alteraciones no deseadas en el cromatograma. El equilibrio de la columna se determinó de acuerdo a las instrucciones del proveedor de la columna, por lo tanto, un aproximado de 10 - 20 volúmenes de columna fueron necesarios para equilibrar la columna, con esto, se ajustó el flujo y se calculó el tiempo necesario con las siguientes fórmulas:

$$V_c = (\pi \times r^2 \times L_c) V_{eq}$$

$$T_{eq} = V_c \times V_f$$

- *V_c*: volúmenes de columna (mL).
- *r²*: radio de la columna al cuadrado (mm).
- *L_c*: longitud de la columna (mm).
- *V_{eq}*: volúmenes de columna requeridos para equilibrio.
- *V_f*: volumen de flujo (mL/min).
- *T_{eq}*: tiempo de equilibrio (min).

Para el caso de la claritromicina, el logP es 3.18, por lo que se toma la decisión de disolverlo con acetonitrilo al 100%. Del mismo modo que con vancomicina, se realizó una disolución 1/10 para realizar un análisis en el UPLC. Se utilizó el mismo procedimiento de inyección y corrida cromatográfica que con el compuesto anterior para verificar el tiempo de retención de ambos e intentar que cada uno pueda eluir tiempos diferentes. Después de realizar diversas pruebas de proporción de fase móvil con el analito de interés y su estándar interno, se determinó que una proporción de 70% agua y 30% acetonitrilo era la más apropiada.

Identificación y comparación de concomitantes

De acuerdo a la información de los medicamentos concomitantes proporcionados, se da la tarea de reunir cada uno de ellos. Posteriormente, se utiliza un concomitante con logP alejado de 1 para obtener un tiempo de retención diferente y probar si el método utilizado era viable para la mayoría de los medicamentos propuestos.

Se realizan múltiples disoluciones de cada uno de los concomitantes con el propósito de que todos al final de la disolución se encontraran dentro de una concentración de 1 a 10 µg/mL. Al ser un procedimiento tan tardado, se optó por realizar una secuencia de inyecciones en las cuales se programa para realizar tres corridas cromatográficas a dos volúmenes de inyecciones diferentes (3 y 5 µL) con el propósito de observar si el pico de cada uno crece proporcionalmente de acuerdo al volumen inyectado. Terminadas las inyecciones, se procede a probar la separación de los concomitantes mediante la comparación de todos los concomitantes, estándar interno y analito de interés.

Curvas de calibración

Para linealizar el proceso de cuantificación y saber cuánto analito se puede analizar, se procede a realizar una curva de calibración para vancomicina con 8 puntos. Se toman en

cuenta dos curvas: la curva de calibración en solución con vancomicina (CCS) y la curva de calibración en plasma (CCP). CCS contiene una concentración precisa de vancomicina en cada punto, con el propósito de tomar alícuotas de cada uno de los puntos para realizar a CCP, que esta última nos sirve para añadir la vancomicina a plasma, y partiendo de esto, realizar las extracciones pertinentes. Las tablas siguientes indican la proporción de solvente, vancomicina y plasma que se debe de agregar respectivamente a cada punto:

Tabla 1. Curva de calibración en solución de vancomicina

	Solución A (1mg/mL)			
	Volumen (µL)	Dilución ACN:Agua en proporción 1:1 (µL)	Volumen final (µL)	Concentración final (µg/mL)
CCS1	100	900	1000	100
CCS2	200	800	1000	200
CCS3	300	700	1000	300
CCS4	400	600	1000	400
CCS5	500	500	1000	500
CCS6	600	400	1000	600
CCS7	700	300	1000	700
CCS8	800	200	1000	800

Tabla 2. Curva de calibración en plasma

	CCS			
	Volumen (µL)	Plasma (µL)	Volumen final (µL)	Concentración final (µg/mL)
CCP1	50	950	1000	5
CCP2	50	950	1000	10
CCP3	50	950	1000	15
CCP4	50	950	1000	20
CCP5	50	950	1000	25
CCP6	50	950	1000	30
CCP7	50	950	1000	35
CCP8	50	950	1000	40

Extracción de vancomicina y estándar interno

Al existir diversas formas de precipitar las proteínas del plasma y extraer el analito de interés, se propone la idea de probar con diversos solventes para evaluar el método que extrae mayor

cantidad de ambos compuestos. Cabe resaltar que se integran algunos pasos extras a la metodología establecida para analizar si es posible mejorar la metodología de extracción.

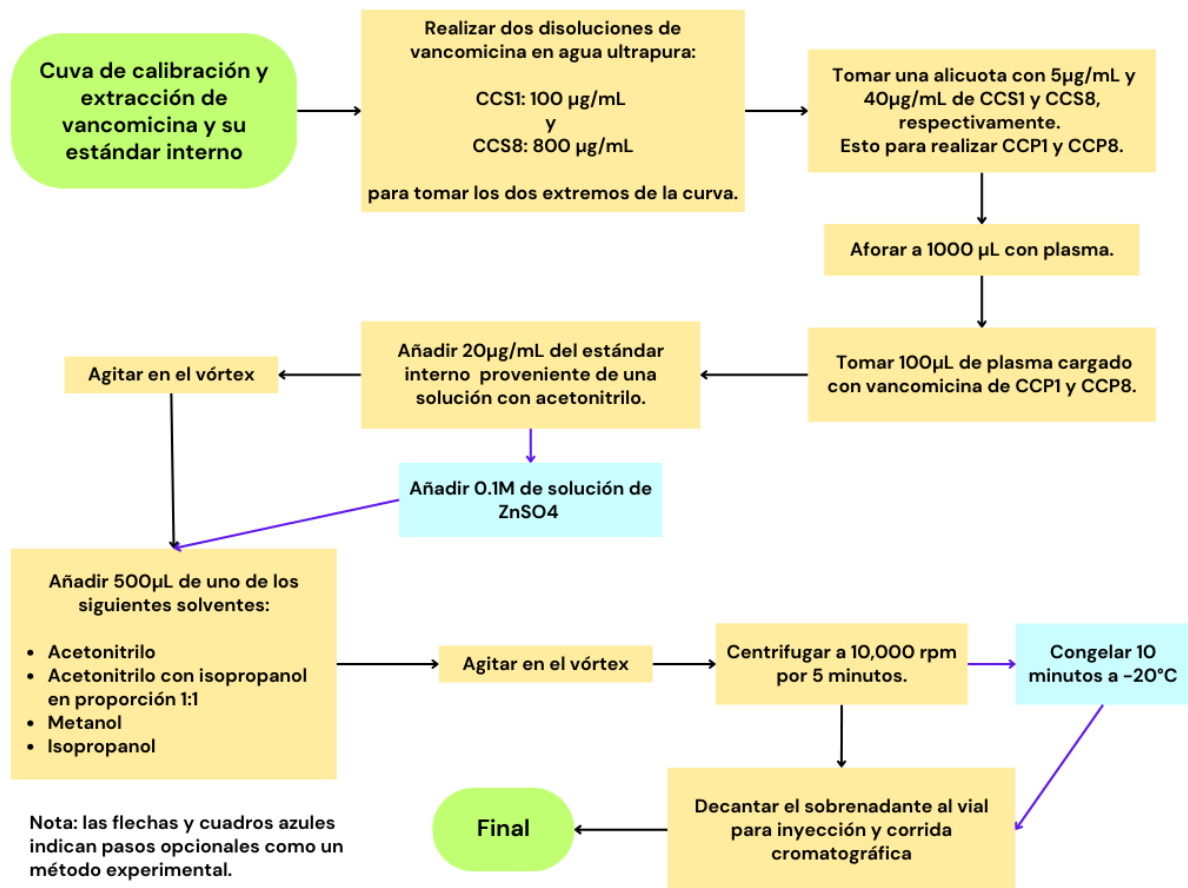


Figura 1. Diagrama de flujo de extracción de vancomicina y su estándar interno.

Durante el proceso de análisis de vancomicina se presentan diversas dificultades debido a múltiples factores que afectan la estabilidad de la muestra, así como también a la fase móvil y estacionaria. Por eso, se probaron diversos métodos con fases estacionarias más cortas o largas, con fases estacionarias diferentes como: C18, C8, Phenyl y C18 con endcapping; también se probó el uso de proporciones diferentes de fase móvil con buffer de acetato de amonio, acetonitrilo, agua ultrapura, agua ultrapura alcalinizada con hidróxido de amonio y agua acidificada con ácido acético o combinaciones de éstos para ver el desplazamiento del tiempo de retención. Aún después de estos cambios, no se apreció una consistencia en la repetibilidad del experimento, por eso se optó por usar el método más estable que consistía en utilizar una proporción mayoritariamente de buffer de acetato de amonio 5 y 10 mM.

RESULTADOS

En las primeras pruebas obtenidas de la identificación de vancomicina, se aprecia la presencia de vancomicina con un tiempo de retención de aproximadamente 2.3 minutos.

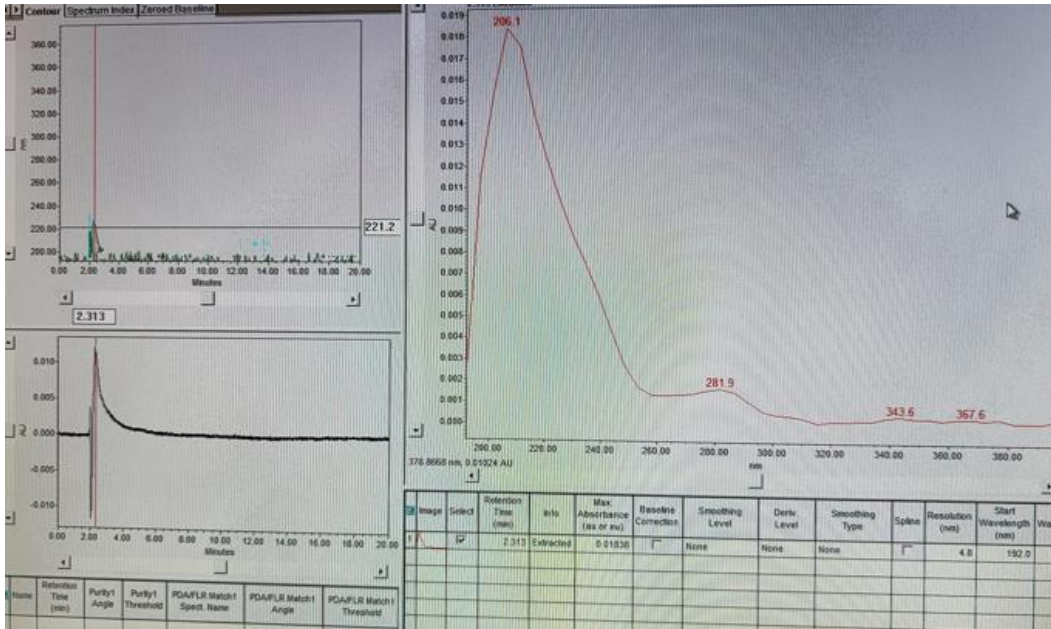


Figura 2. Cromatograma y espectro UV de vancomicina

En la figura 3 podemos apreciar que el tiempo de retención de claritromicina es de aproximadamente 4.5 minutos, por lo que es viable que este sea el estándar interno de vancomicina.

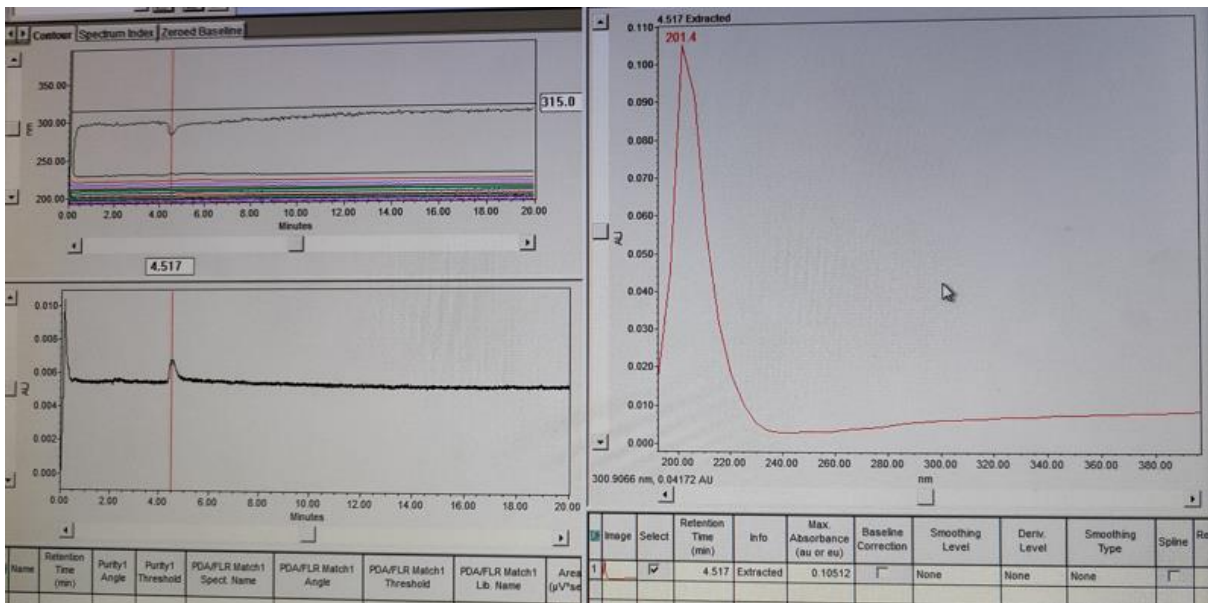


Figura 3. Cromatograma y espectro UV claritromicina

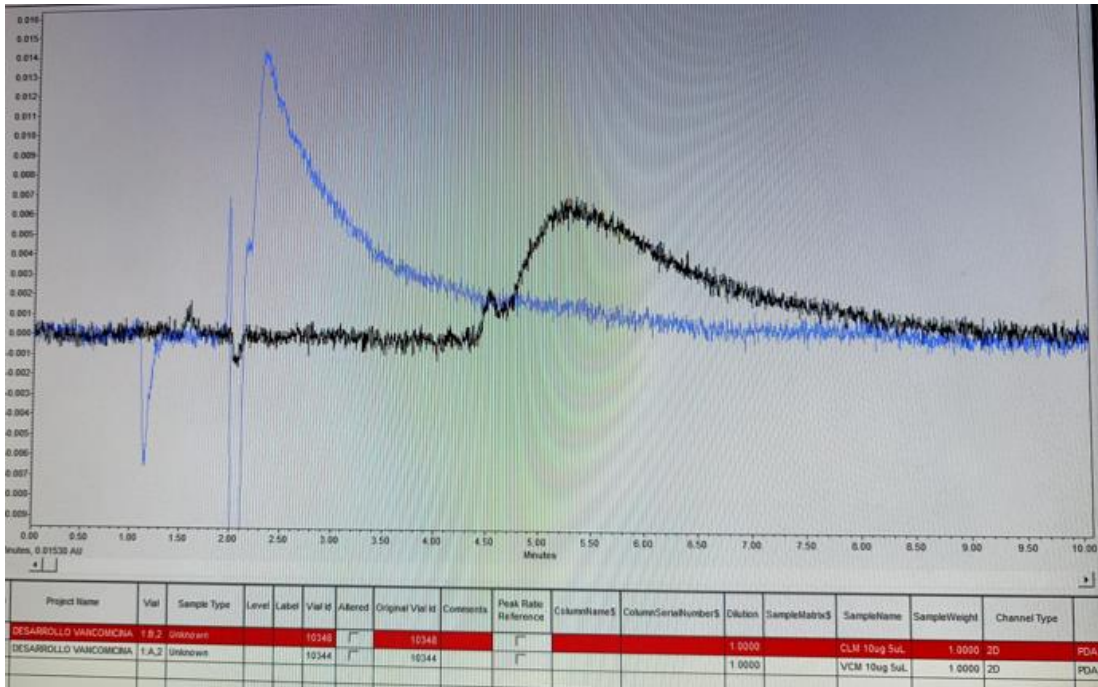


Figura 4. Comparación de cromatogramas de vancomicina y claritromicina.

En la figura 5 se aprecia una inflexión antes de la señal resultante de vancomicina, por lo que se decide realizar otra inyección, y el resultado es el mismo. Cabe mencionar que aproximadamente cada 3 - 4 semanas se realizaba una disolución de vancomicina de referencia nueva para evitar el análisis de muestras degradadas, ya que estas pueden presentar menos respuesta o incluso algún producto de degradación que afecte a la lectura del analito de interés.

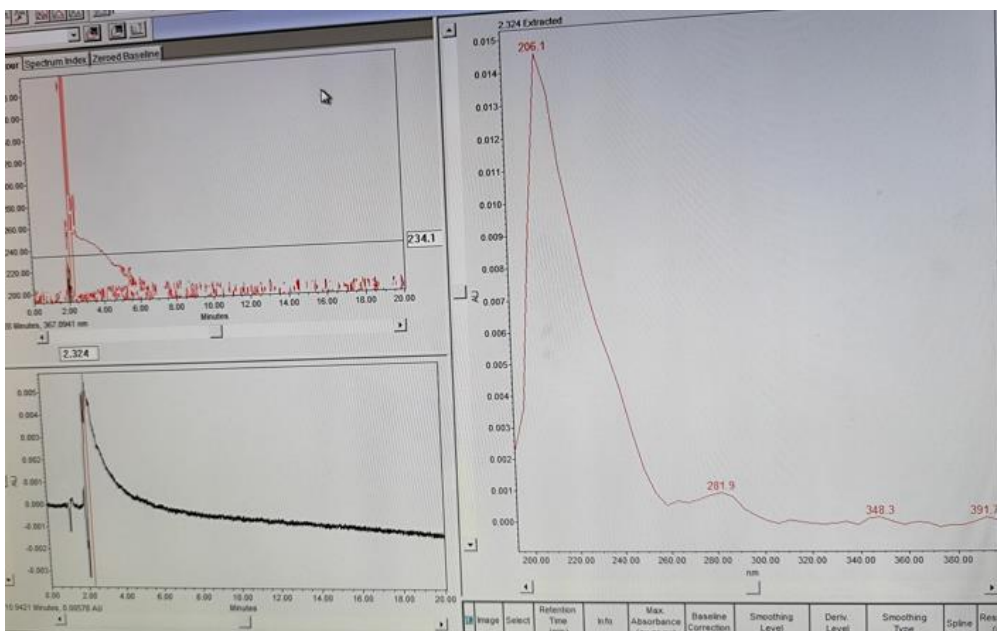


Figura 5. Cromatograma y espectro UV de vancomicina

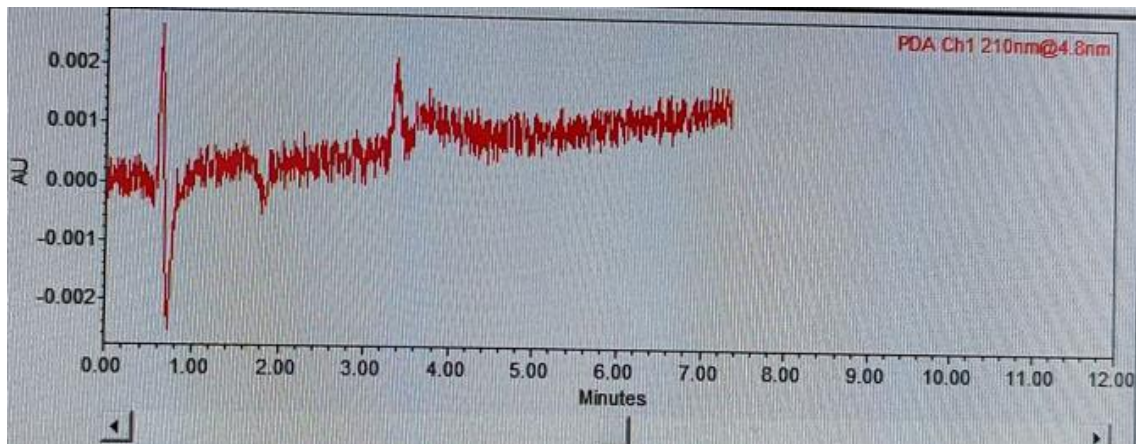


Figura 6. Cromatograma de respuesta de la extracción de vancomicina y claritromicina con acetonitrilo

CONCLUSIÓN

No fue posible cuantificar la vancomicina debido a la inconsistencia de los cromatogramas obtenidos con los métodos propuestos. Aunque se intentó un acercamiento a la cuantificación, no se logró obtener resultados reproducibles entre diferentes inyecciones y días. Se considera que varios factores críticos afectaron los métodos utilizados, como el uso de agua no desgasificada, que sólo se desgasificaba al obtenerla de los almacenes de agua ultrapura del área de ingeniería biomédica. Sin embargo, al caer el agua se llenaba nuevamente de burbujas debido al flujo inadecuado del grifo de estos almacenes. Otro factor relevante fue que las soluciones de fase móvil no se desgasificaban ni filtraban diariamente, como lo recomienda el fabricante. Estas limitaciones se deben a la falta de recursos en el área, que es nueva y aún se encuentra en proceso de establecimiento dentro del hospital.

En conclusión, no se logró validar un método para cuantificar vancomicina en muestras biológicas. Sin embargo, se espera que, en el futuro, la implementación de equipos de baños ultrasónicos y de filtración pueda mejorar la reproducibilidad de los análisis cromatográficos y facilitar el establecimiento de un método analítico adecuado para este propósito.

REFERENCIAS

1. MSD Manual. (s.f.). *Vancomicina: Farmacocinética*. Recuperado de https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-f%C3%A1rmacos-antibacterianos/vancomicina#Farmacocin%C3%A9tica_v1004967_es
2. Laurent, F. (2005). *La vancomicina: El glucopéptido más utilizado en el tratamiento de infecciones graves*. ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1636541012619254#:~:text=La%20vancomicina%20es%20el%20glucop%C3%A9ptido,el%20tratamiento%20de%20forma%20ambulatoria>
3. Waters Corporation. *Guía de iniciación a la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)*. Recuperado de <https://www.waters.com/nextgen/mx/es/education/primers/beginner-s-guide-to-liquid-chromatography.html>
4. Sgariglia, M. A., Soberón, J. R., Sampietro, D. A., & Vattuone, M. A. (2010). *Cromatografía: Conceptos y aplicaciones*. Recuperado de https://notablesdelaciencia.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/75465/CONICET_Digital_Nro.3655a360-b03b-44c8-8519-bc747d073f7c_A.pdf?sequence=2
5. Thermo Fisher Scientific. *HPLC basics*. Thermo Fisher Scientific. Recuperado de <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/industrial/chromatography/chromatography-learning-center/liquid-chromatography-information/hplc-basics.html>
6. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (9th ed.). Cengage Learning.
7. International Organization for Standardization. (2017). *ISO 17034:2016 - General requirements for the competence of reference material producers*. ISO.
8. DrugBank. Vancomycin. DrugBank. Recuperado de <https://go.drugbank.com/drugs/DB00512>
9. Laboratorio Chile. *Medicamentos Concomitantes*. Recuperado de <https://www.laboratoriochile.cl/farmacovigilancia/#:~:text=Un%20medicamento%20concomitante%2C%20corresponde%20a,el%20uso%20del%20medicamento%20sospechoso>.
10. Ghasemiyeh, P., Vazin, A., Zand, F., Azadi, A., Karimzadeh, I., & Mohammadi-Samani, S. (2020). *A simple and validated HPLC method for vancomycin assay in plasma samples: the necessity of TDM center development in Southern Iran*. Recuperado de <https://doi.org/10.4103/1735-5362.301337>
11. Valle, M., González, F., & Sánchez, A. (2008). *Development and validation of an HPLC method for vancomycin and its application to a pharmacokinetic study*. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0731708508003397>

12. Thomas, A. H., & Newland, P. (1987). *Chromatographic methods for the analysis of vancomycin*. *Journal of Chromatography*. Elsevier Science Publishers. Recuperado de [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)90067-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)90067-0)
13. Ye, Z. K., Tang, H. L., & Zhai, S. D. (2013). Benefits of therapeutic drug monitoring of vancomycin: A systematic review and meta-analysis. Recuperado de <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077169>
14. Rybak, M. J., Lomaestro, B. M., Rotschafer, J. C., Moellering, R. C., Craig, W. A., Billeter, M., Dalovisio, J. R., & Levine, D. P. (2009). *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*. *American Journal of Health-System Pharmacy*. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19106348/>