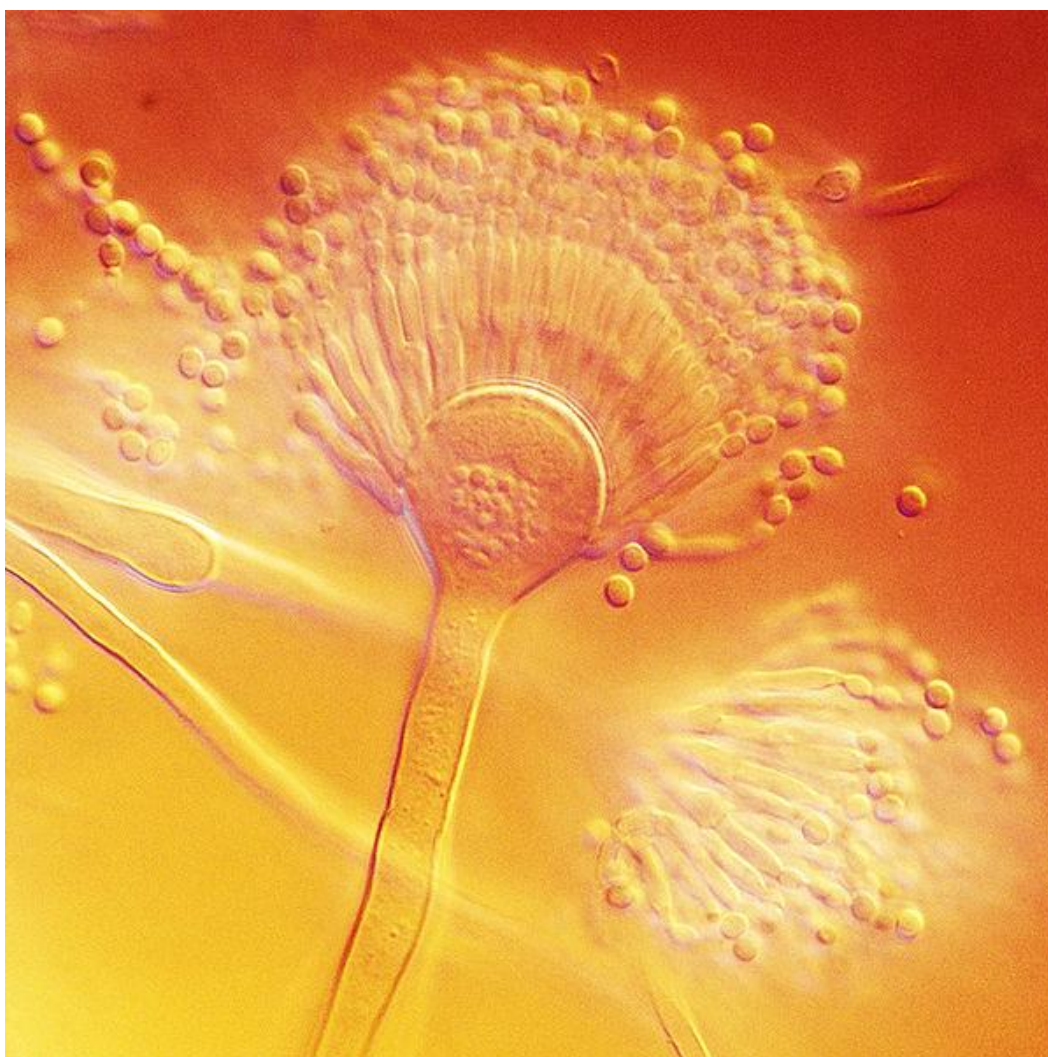


GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

Guía de Procedimiento para la determinación de fármacos Antimicóticos en Muestras de suero y plasma por Espectometría de masas



Elaborado por:	Revisado por:	Aprobado por:
Equipo Laboratorio de Bioquímica Especializada del Servicio de Patología Clínica.	<ul style="list-style-type: none">• Unidad de Soporte al Diagnóstico y Tratamiento• Sub Unidad de Soporte al Diagnóstico• Unidad de Gestión de la Calidad	Dr. Antonio Ricardo Zopfi Rubio Director del Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 1 de 16
------------------	-------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

Guía de Procedimiento para la determinación de fármacos Antimicóticos en Muestras de suero y plasma por Espectometría de masas

I.	Título.....	3
II.	Finalidad.....	3
III.	Objetivos	3
a.	Objetivo General.....	3
b.	Objetivo específico	3
IV.	Ámbito de aplicación.....	3
V.	Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT	3
VI.	Consideraciones Generales.....	3
a.	Definiciones Operativas	3
1.	Definición del Procedimiento.....	3
2.	Aspectos Epidemiológicos importantes	4
3.	Consentimiento Informado.....	4
b.	Conceptos Básicos	4
c.	Requerimientos Básicos.....	4
VII.	Consideraciones Específicas	5
a.	Descripción detallada del Proceso o Procedimiento	5
b.	Indicaciones.....	12
1.	Indicaciones Absolutas.....	12
2.	Indicaciones Relativas.....	12
c.	Riesgos o complicaciones frecuentes.....	12
d.	Riesgos o complicaciones poco frecuentes.....	12
e.	Contraindicaciones	12
VIII.	Recomendaciones.....	13
IX.	Autores, fecha y lugar	13
X.	Bibliografía.....	13
XI.	Anexos	14

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Guía de Procedimiento para la determinación de fármacos Antimicóticos en Muestras de suero y plasma por Espectrometría de masas

I. Título

Determinación de Fármacos Antimicóticos en muestras de suero y plasma por Espectrometría de masas.

II. Finalidad

Documentar los procedimientos técnicos, pre-analíticos, analíticos y post-analíticos en la determinación de fármacos antimicóticos por Espectrometría de masas.

III. Objetivos**a. Objetivo General**

Determinación de Fármacos antimicóticos por espectrometría de masas en muestras de sangre.

b. Objetivo específico

Establecer en forma estandarizada el procedimiento para la determinación de fármacos antimicóticos o antifúngicos en pacientes con terapia profiláctica o específica, obteniendo muestras de sangre para obtener resultados cuantitativos.

IV. Ámbito de aplicación

Determinación espectrométrica y cuantitativa de fármacos antimicóticos, dirigida a pacientes con terapia en los diversos servicios de la Institución. El área correspondiente a la labor analítica es el correspondiente a Bioquímica Especializada (Ver Anexo N° 01 para listado de antimicóticos).

V. Nombre del Proceso o Procedimiento a Estandarizar y Código CPT

Determinación de Fármacos Antimicóticos por Espectrometría de Masas.
Código CPT: 8029901

VI. Consideraciones Generales**a. Definiciones Operativas****1. Definición del Procedimiento**

Medición cuantitativa en suero y plasma de la presencia de fármacos antifúngicos : Fluconazol, Ketoconazol, 5-Flucitosina, Posaconazol, Hidroxitraconazol, Itraconazol, Voriconazol.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

2. Aspectos Epidemiológicos importantes

Las infecciones micóticas son parte del universo de patologías causadas por agentes biológicos, adquiridas de manera primaria o secundaria. Este último mecanismo es de importancia en pacientes tratados en el INSNSB, cuyo status inmunológico previo o como consecuencia de la evolución de procedimientos terapéuticos, pueden inducir al riesgo de adquirir este tipo de infecciones y a la necesidad de implementar tratamiento preventivo o curativo, generando la solicitud de determinar la concentración de fármacos antimicóticos como parte del manejo clínico del paciente.

3. Consentimiento Informado

No aplica

b. Conceptos Básicos

- Antimicóticos: Sinónimo de Antifúngicos. Fármacos usados en infecciones micóticas de amplio espectro y oportunistas, entre ellos en pacientes inmunocomprometidos. Entre el espectro de hongos bajo terapia antimicótica: Aspergillus, Cándida, Dermatofitos.
- Espectrometría de masas: Técnica de laboratorio muy sensible que permite detectar e identificar pequeñas moléculas dentro de una sustancia o muestra, valiéndose de la masa y carga eléctrica inherentes y específicos de cada una de estas moléculas. En el caso presente, la técnica permite detectar y cuantificar los distintos fármacos antimicóticos, cuyas representaciones en forma de picos (espectrograma) es característico de cada uno de ellos.
- Inmunodepresión: Estado en el cual un individuo se encuentra en incapacidad parcial o completa para responder mediante su sistema inmunitario y por tanto, controlar infecciones. Las causas son variables y se suscitan como consecuencia de alguna patología debilitante (cáncer por ejemplo) y uso de medicamentos destinados a frenar el sistema inmunológico evitando sus reacciones de rechazo, como ocurre en la terapia en transplantes.

c. Requerimientos Básicos**Recursos Humanos**

- Médico patólogo Clínico capacitado y entrenado en técnicas de espectrometría de Masa.
- Químico especialista capacitado y entrenado en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) y Espectrometría de Masas (EM)
- Técnico de Laboratorio capacitado y entrenado en procedimientos de Toma de Muestra sanguínea.

Equipos Biomédicos.

- Espectrómetro de Masa en tándem (3200Q Trap).

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 4 de 16
------------------	-------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

- Software de cálculo.
- Sistema de HPLC.
- Desgasificador de alto rendimiento 1260 Infinity.
- Bomba Binaria 1260 infinity .
- Inyector automático de alto rendimiento 1260 Infinity.
- Compartimento de columna termostatzado 1290 Infinity.
- Bandeja de Solventes.
- Balanza Analítica de alta precisión.
- Refrigeradora de Reactivos de 2-8°C.
- Conservadora de -20°C.
- Rotador digital 20-250 rpm.
- Vortex.
- Pipeta Automática.
- Computadora.
- Impresora.

Materiales Médicos no Fungibles.

- Pipeta Volumétrica de 5 ml.
- Micropipetas automática de 100 µl.
- Puntas de pipeta (Tips) con filtro.
- Matraz aforado (fiola) de 25 ml.
- Botellas de Solvente de volumen adecuado .
- Cronómetro

Materiales Médicos Fungibles.

- Plumón marcador indeleble, resistente al agua.
- Plumón indeleble resistente a -20°C.
- Papel absorbente.

Medicamentos.

- Agua HPLC.
- Parafilm.
- Papel de aluminio.

VII. Consideraciones Específicas

a. Descripción detallada del Proceso o Procedimiento

❖ Sistema LC-MS/MS

1. Equipamiento y parámetros del equipo de HPLC para el análisis de los antimicóticos

Se precisa un sistema con bomba de HPLC, un inyector y un espectrómetro de masas en tándem con la suficiente sensibilidad. Es necesario mantener la fase

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

móvil cerrada o tapada también durante el funcionamiento. No se requiere ni columna HPLC, ni horno para columnas.

Ajustes del equipo:

- Auto-inyector: Volumen de inyección 10 µl
- Duración del análisis: 1,7 min
- Gradiente de flujo: de 20 a 600 µl/min
- Fluido de limpieza de la aguja del inyector: Rinsing Solution (solución de enjuague)

Gradiente:

- El gradiente deberá ajustarse, eventualmente, debido a los diferentes volúmenes muertos de los sistemas de HPLC. Por eso, el gradiente indicado debe tomarse como base para la optimización.
- Hay que situar la ventana temporal de medición del sistema MS en tándem durante el intervalo temporal en el que las intensidades de señal alcanzan el nivel máximo (aprox. 0,25 a 1,25 min).

Tiempo (min)	0	0,24	0,25	1,24	1,25	1,50	1,51
Flujo (µl/min)	200	200	20	20	600	200	200

Si el sistema de HPLC no puede mantener un flujo constante de 20 µl/min, se puede trabajar entonces de forma isocrática a 100-150 µl/min. Sin embargo, hay que tener en cuenta que con el método isocrático la sensibilidad será menor.

2. Optimización de las transiciones MRM (tuning)

Se recomienda comprobar la exactitud de masas del sistema MS/MS, calibrarlo de nuevo en caso necesario y optimizar las transiciones MRM como se detalla a continuación:

- Diluir el Tuning Mix con la Mobile Phase 2 según el aparato correspondiente (aprox. 1:20) e infundir mediante una bomba inyectora a través de una conexión en T en la corriente del eluyente (100 % Mobile Phase 2, 0,6 ml/min).
- Usar un Q1 Scan (MS Scan) para optimizar los parámetros de la fuente de iones, en particular el voltaje del capilar, la temperatura y los flujos de los diferentes gases.
- A continuación, optimizar individualmente los parámetros para cada transición MRM (p. ej., potenciales, energía de colisión).
- Volver a optimizar en modo MRM los parámetros de la fuente de iones para los analitos con la intensidad de señal más baja.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

3. Funcionamiento**➤ Antes de iniciar la serie de análisis**

- Antes de iniciar una secuencia de análisis, las bombas de vacío del sistema
- LC- MS/MS deben llevar 8 horas en funcionamiento.
- A continuación, hay que lavar el equipo con unos 10 ml de fase móvil, con una velocidad de flujo de 200 µl/min.
- Después, inyectar varias veces los dos controles procesados hasta que dos cromatogramas por cada uno de los controles sean casi idénticos en sus valores de concentración e intensidades de señal.
- Posterior a lo descrito, se puede iniciar los análisis por el personal capacitado.

➤ Pausas en el funcionamiento

Durante las pausas en el funcionamiento se puede apagar la bomba de HPLC, dejando que la fase móvil permanezca en el sistema de HPLC. Es imposible que se produzca una cristalización salina en las guarniciones del émbolo de la bomba de HPLC. Las bombas de vacío del sistema LC-MS/MS deberían estar constantemente en funcionamiento. Para proteger la fuente de ionización y el multiplicador, el sistema MS/MS debe conectarse en modo Standby.

4. Transiciones de los analitos y de los estándares internos

La siguiente tabla contiene las transiciones recomendadas de los analitos y de los correspondientes estándares internos. Todas las sustancias se miden en modo de ionización positivo. En donde es posible, se indican también otras dos transiciones que pueden emplearse para el análisis cualitativo.

Sustancia	Estándar interno empleado(MRM1)	MRM 1	MRM 2	MRM 3
Fluconazol	ISTD 2 (311 → 223)	307 → 220	307 → 238	307 → 169
5 - Fluticazona	ISTD 1 (133 → 115)	130 → 113	130 → 58	130 → 85
Hidroxiitraconazol	ISTD 7 (729 → 400)	721 → 392	721 → 430	721 → 408
Itraconazol	ISTD 6 (714 → 401)	705 → 392	705 → 432	705 → 335
Ketoconazol	ISTD 4 (539 → 497)	531 → 489	531 → 82	531 → 244
Posaconazol	ISTD 5 (706 → 617)	701 → 614	701 → 683	701 → 343
Voriconazol	ISTD 3 (353 → 284)	350 → 281	350 → 224	350 → 155

La siguiente tabla representa las transiciones para los estándares internos que se usan para el set de parámetros de los antimicóticos:

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 7 de 16
------------------	-------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

Estándar Interno (REF 92064)	MRM 1	MRM 2	MRM 3
ISTD 1	133 → 115	133 → 59	133 → 87
ISTD 2	311 → 223	311 → 242	311 → 172
ISTD 3	353 → 284	353 → 224	353 → 155
ISTD 4	539 → 497	539 → 82	539 → 244
ISTD 5	706 → 617	706 → 687	706 → 345
ISTD 6	714 → 401	714 → 441	714 → 344
ISTD 7	729 → 400	729 → 438	729 → 416

Las masas indicadas deben tomarse como punto de partida para la optimización. La situación exacta del máximo de la señal varía ligeramente en cada sistema MS, y debe determinarse con exactitud dentro del marco de la afinación de la máquina (por lo menos en un decimal después de la coma). Para ello se puede emplear el Tuning Mix correspondiente.

5. Gradiente HPLC

La separación de los antimicóticos se realiza mediante elución en gradiente. Dicho perfil deberá ajustarse, en caso necesario, en función de los diferentes volúmenes muertos de cada sistema de HPLC. Por eso, el gradiente indicado debe tomarse como base para la optimización.

Tiempo [min]	Mobile Phase 1 [%]	Mobile Phase 2 [%]
0,00	70	30
0,50	70	30
0,51	0	100
2,80	0	100
2,81	70	30
3,20	70	30

6. Dilución y volumen de inyección

Para evitar problemas con la solubilidad de algunos analitos, las muestras preparadas deben inyectarse sin diluir. En el caso de sistemas MS de alta sensibilidad, se recomienda reducir el volumen de inyección estándar de 10 µl. Si fuera necesaria una dilución, las muestras pueden diluirse a una proporción máxima de 1:2 con Dilution Buffer 2.

❖ Preparación de la muestra, estándares.

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 8 de 16
------------------	-------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

7. Obtención y conservación de muestras de pacientes

El objeto a analizar es plasma o suero. Las muestras se conservan hasta 2 semanas a temperatura ambiente, y hasta 4 semanas entre +2 y +8 °C. Para almacenarlas más tiempo, las muestras deben conservarse congeladas bajo -18 °C (máximo 3 meses).

➤ Reconstitución del estándar interno

El Internal Standard Mix se añade en cantidades definidas a cada muestra y es sometido a todo el proceso de preparación de muestras.

Para la preparación de muestras, pipetar 800 µl de Internal Standard Mix a 12,0 ml de Precipitation Reagent.

Caducidad

El Internal Standard Mix se conserva, congelado por debajo de -18 °C, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.

En el Precipitation Reagent, el Internal Standard Mix se conserva hasta dos semanas cerrado herméticamente en recipientes de cristal protegidos de la luz y almacenado refrigerado (+2 hasta +8 °C). En caso de almacenamiento más prolongado (máximo tres meses), la mezcla se debe congelar a menos de -18 °C. Evitar la luz del sol directa.

➤ Estabilidad de las muestras preparadas

Tras la preparación de muestras, las muestras cerradas herméticamente en recipientes de cristal protegidos de la luz se conservan como se indica a continuación:

- A temperatura ambiente (aprox. 25 °C): hasta 03 (tres) días
- En la nevera (+2°C hasta +8 °C): hasta 07 (siete) días Se recomienda el uso de un autoinyector refrigerado.

En caso de almacenamiento más prolongado, deben almacenarse las muestras a temperaturas de menos de -18 °C, conservándose así un máximo de dos semanas. Antes de inyectar los eluatos, es necesario, una vez descongelados, agitarlos bien.

8. Registro de datos y cálculo

Debido al rápido metabolismo del itraconazol en el hígado, donde se forma el hidroxitraconazol, también antimicótico, siempre hay que considerar la cantidad de itraconazol total (= itraconazol + OH- metabolito). En equilibrio, la

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 9 de 16
------------------	-------------------------------	----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

proporción de itraconazol e hidroxitraconazol en plasma suele ser de 1:1 a 1:2.

Los rangos de terapéuticos indicados han sido extraídos de la bibliografía [1 - 4]. Dado que los principios activos indicados en la tabla se metabolizan de forma distinta según el sexo, edad, grupo étnico y dosis suministrada, se recomienda que cada laboratorio calcule su propio rango de referencia específico para cada una de las sustancias indicadas.

Sustancia	Rango de terapéutico [1]	Rango de terapéutico [2]	Rango de terapéutico [3]	Rango de terapéutico [4]
Fluconazol	–	–	1–5 mg/l	5–15 mg/l
5-Flucitosina	25–75 mg/l	20–50 mg/l	35–70 mg/l	25–50 mg/l
Itraconazol + hidroxitraconazol	0,4–2 mg/l	0,5–2 mg/l	0,4–2 mg/l	1–4 mg/l
Ketoconazol	0,5–6 mg/l	–	1–3 mg/l	0,3–0,5 mg/l
Posaconazol	–	0,5–1,5 mg/l	> 0,7 mg/l*	–
Voriconazol	1–6 mg/l	0,5–6 mg/l	2–6 mg/l	0,5–5 mg/l

Factores de conversión

La siguiente tabla contiene los factores de conversión entre concentraciones en masa y concentraciones molares, y a la inversa.

Sustancia	μmol/l en mg/l	mg/l en μmol/l
Fluconazol	0,3063	3,2651
5-Flucitosina	0,1291	7,7465
Hidroxitraconazol	0,7216	1,3857
Itraconazol	0,7056	1,4172
Ketoconazol	0,5314	1,8817
Posaconazol	0,7008	1,4270
Voriconazol	0,3493	2,8629

9. Interferencias conocidas

El medicamento para la diabetes metformina (1,1-dimetilbiguanida) tiene las mismas transiciones MRM1 130 → 113 y MRM3 130 → 85 que la 5-flucitosina y no puede diferenciarse de esta mediante sus tiempos de retención. Para identificar inequívocamente la 5-flucitosina hay que usar la primera transición cualificadora (MRM2 130 → 58).

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 10 de 16
------------------	-------------------------------	-----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS

El antiepiléptico vigabatrina altera las transiciones MRM1 130 → 113 y MRM2 130 → 58 de 5-flucitosina; ambas sustancias no se diferencian por sus tiempos de retención. Para identificar inequívocamente la 5-flucitosina puede usar la segunda transición cualificadora (MRM3 130 → 85).

En los cromatogramas de 5-flucitosina (MRM1 130 → 113 y MRM3 130 → 85) se observa otro pico en las muestras reales que contienen el nucleósido inhibidor de la transcriptasa inversa emtricitabina. Ambos analitos pueden diferenciarse por sus tiempos de retención (la 5-flucitosina eluye antes que la emtricitabina Δ TR aprox. 0,2 min). Para identificar inequívocamente la 5-flucitosina hay que usar la MRM2 específica 130 → 58.

La comedicación con el inhibidor de la proteasa atazanavir genera una interferencia en la traza de masa del itraconazol (en ambas sustancias: MRM1 705 → 392 y MRM3 705 → 335); ambas sustancias pueden diferenciarse mediante sus tiempos de retención (atazanavir eluye antes que el itraconazol, Δ TR aprox. 0,4 min). Para identificar inequívocamente el itraconazol puede usarse además la primera cualificadora (MRM2 705 → 432).

El inhibidor de la proteasa ritonavir puede producir un falso positivo en el análisis del hidroxiitraconazol, dado que ambas sustancias no pueden diferenciarse por sus tiempos de retención y forman los mismos fragmentos (MRM1 721 → 392 y MRM3 721 → 408). Para identificar inequívocamente el hidroxiitraconazol, puede recurrirse también a la transferencia de masas 721 → 430.

Resumen/Vista general:

Analito	Interferencia	Δ TR	Transiciones interferidas	Transiciones no interferidas
5-Flucitosina	Metformina (1,1-dimetilbiguanida)	Coelución	130 → 113 130 → 85	130 → 58
5-Flucitosina	Vigabatrina	Coelución	130 → 113 130 → 58	130 → 85
5-Flucitosina	Emtricitabina	0,2 min aprox.	130 → 113 130 → 85	130 → 58
Itraconazol	Atazanavir	0,4 min aprox.	705 → 392 705 → 335	705 → 432
Hidroxiitraconazol	Ritonavir	Coelución	721 → 392 721 → 408	721 → 430

10. Seguridad en el Laboratorio

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 11 de 16
------------------	-------------------------------	-----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

El personal del área debe tener un conocimiento sobre la manipulación de productos químicos, se entiende por las propiedades del material y de los posibles peligros que emanan de él. Debe tenerse presente, que pueden producirse reacciones peligrosas inesperadas.

Debe tomarse las medidas de seguridad necesarias en el manejo de productos químicos, sobre todo del material peligroso. Tener en cuenta las indicaciones en las etiquetas sobre los riesgos y los consejos de manipuleo (Ver Anexo N° 02).

Cuando se trate de una sustancia cuyas propiedades toxicológicas se desconozcan, la misma ha de ser manipulada con los cuidados usuales para productos químicos peligrosos.

Considerar a los controles internos de riesgo biológico debido que se producto de un pool de sangre humana, cuyos análisis han salido negativos para enfermedades infecciosas (anticuerpos de VIH 1/2, ADN de VIH, VCH y VBH (PCR), antígenos HBs, anticuerpos HBc y ensayo TPHA). Sin embargo, no es posible descartar totalmente un riesgo de infección al usar este producto. Al usar estos productos se tienen que cumplir las mismas medidas de precaución que en el manejo de muestras de pacientes potencialmente infecciosas.

El tratamiento de los residuos de la Mobile Phase, Rinsing Solution, Extraction Buffer y Tuning Mix, así como los restos de las muestras extraídas, contienen solventes orgánicos y deben ser eliminadas correctamente según establezcan el manual de residuos del INSN-SB.

b. Indicaciones

1. Indicaciones Absolutas

Determinación de concentraciones de fármacos antimicóticos en pacientes en tratamiento.

2. Indicaciones Relativas

Determinación de concentraciones de fármacos antimicóticos en pacientes bajo régimen profiláctico o preventivo.

c. Riesgos o complicaciones frecuentes

Ninguna.

d. Riesgos o complicaciones poco frecuentes

Ninguna.

e. Contraindicaciones

Solicitud de determinación en pacientes con tratamiento antimicóticos

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 12 de 16
------------------	-------------------------------	-----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

VIII. Recomendaciones

Ceñirse a los periodos de almacenamiento de muestras expuestos en acápite anteriores, evitando alteración de las mismas.

IX. Autores, fecha y lugar

Instituto Nacional de Salud del Niño - San Borja

Sub Unidad de Apoyo al Diagnóstico y Tratamiento

Fecha de Elaboración: Mayo 2019

Vigencia: 02 años, a partir de su aprobación con R.D.

Autores:

- | | |
|--------------------------------------|--------------------------|
| 1. Dr. Carlos Jamieson Villanueva | cjamieson@insnsb.gob.pe |
| 2. Dra. Luzmila Rodríguez Pinto | lrodriguez@insnsb.gob.pe |
| 3. Q.F. Luz Jeannette Abanto Aguilar | jabanto@insnsb.gob.pe |

X. Bibliografía

1. Ludewig R, Regenthal R (Hrsg). Akute Vergiftungen und Arzneimittelüberdosierungen. 10. Aufl, WVG Stuttgart, (2007).
2. Andes D, Pascual A, Marchetti O. (2009) Antifungal therapeutic drug monitoring: established and emerging indications. Antimicrob Agents Chemother 53(1): 24-34.
3. Schulz M, Iwersen-Bergmann S, Andresen H, Schmoldt A. (2012) Therapeutic and toxic blood concentrations of nearly 1,000 drugs and other xenobiotics. Crit Care 16(4): R136. Published online 2012 July 26. doi: 10.1186/cc11441
4. TIAFT reference blood level list of therapeutic and toxic substances. September 2004
5. Smith J, Andes D. (2008) Therapeutic drug monitoring of antifungals: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. Ther Drug Monit 30(2): 167-72.
6. Oppermann M. (2007) Posaconazol (Noxafil®) - ein neues Azolantimykotikum. Bedeutung für die Behandlung von invasiven Mykosen. Fortbildungstelegramm Pharmazie 1: 32-8.
7. Willems L, van der Geest R, de Beule K. (2001) Itraconazole oral solution and intravenous formulations: a review of pharmacokinetics and pharmacodynamics. J Clin Pharm Ther 26(3): 159- 69.
8. Hahn C, Borg-von Zeppelin M, Groll AH, Lampe D, Schuler U, Seibold M, Glasmacher A.(2003) Standortbestimmung von Antimykotika: Itraconazol. Chemother J 11: 85-92.
9. Buchkowsky SS, Partovi N, Ensom MHH. (2005) Clinical pharmacokinetic monitoring of itraconazole is warranted in only a subset of patients. Ther Drug Monit 27(3): 322-33.
10. Manavathu EK, Cutright JL, Chandrasekar PH. (1998) Organism-dependent fungicidal activities of azoles. Antimicrob Agents Chemother 42(11): 3018-21.
11. Conte JE, Golden JA, Kipps J, McIver M, Zurlinden E. (2004) Intrapulmonary pharmacokinetics and pharmacodynamics of itraconazole and 14-hydroxyitraconazole at steady state. Antimicrob Agents Chemother 48(10): 3823-7.
12. Dismukes WE. (2000) Introduction to antifungal drugs. Clin Infect Dis 30(4): 653-7.

Fecha: Mayo 2019	GP-013/INSN-SB/USDXT/PC-V 0.1	Página 13 de 16
------------------	-------------------------------	-----------------

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

13. Ducharme MP, Slaughter RL, Warbasse LH, Chandrasekar PH, van de Velde V, Mannens G, Edwards DJ. (1995) Itraconazole and hydroxyitraconazole serum concentrations are reduced more than tenfold by phenytoin. *Clin Pharmacol Ther* 58(6): 617-24.
14. Boogaerts M, Winston DJ, Bow EJ, Garber G, Reboli AC, Schwarzer AP, Novitzky N, Boehme A, Chwezo E, de Beule K. (2001) Intravenous and oral itraconazole versus intravenous amphotericin B deoxycholate as empirical antifungal therapy for persistent fever in neutropenic patients with cancer who are receiving broad-spectrum antibacterial therapy. *Ann Intern Med* 135(6): 412-22.
15. Kratzer C, Graninger W, Presterl E. (2007) Posaconazol. Ein neues Breitspektrum-Antimykotikum. *Chemother J* 16(4):113-22.
16. Cornely OA, Maertens J, Winston DJ, Perfect J, Ullmann AJ, Walsh TJ, Helfgott D, Holowiecki J, Stockelberg D, Goh YT, Petrini M, Hardalo C, Suresh R, Angulo-Gonzalez D. (2007) Posaconazole vs. fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 356(4): 348- 59.
17. Groll AH, Ritter J. Diagnose und Therapie von Pilzinfektionen und der Pneumozystis-Pneumonie bei Kindern und Jugendlichen mit neoplastischen Erkrankungen. In *Klinische Pädiatrie*. Thieme Verlag Stuttgart (2005) Vol. 217: 37-66.
18. Ullmann AJ, Cornely OA, Burchardt A, Hachem R, Kontoyiannis DP, Töpelt K, Courtney R, Wexler D, Krishna G, Martinho M, Corcoran G, Raad I. (2006) Pharmacokinetics, safety, and efficacy of posaconazole in patients with persistent febrile neutropenia or refractory fungal infection. *Antimicrob Agents Chemother* 50(2): 658-66.

XI. Anexos

1. Anexo N° 01: Listado de Antimicóticos y valores referenciales.
2. Anexo N° 02: Condiciones de Manipulación y Almacenamiento de reactivos.

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

ANEXO N° 01**LISTADO DE ANTIMICÓTICOS Y VALORES REFERENCIALES**

FÁRMACO ANTIMICÓTICO	VALOR REFERENCIAL SUGERIDO (mcg/ml)	DÍAS DE 1ª MEDICIÓN LUEGO DE INICIADA TERAPIA	NIVELES DE TOXICIDAD
Fluconazol	No se indica monitorización regular, excepto en casos de disfunción renal. No existe consenso en rangos.	-----	-----
Ketoconazol	No se considera monitorización clínica.	-----	-----
5-Flucitosina	20 – 50	3-5	Mayor de 50
Posaconazol	Profilaxis : > 0.5 Terapia : 1 – 1.5	4-7	Sin datos
Hidroxitraconazol	1-10	4-7	Sin datos
Itraconazol	Profilaxis : > 0.5 Terapia : 1 - 2	4-7	Sin datos
Voriconazol	Profilaxis : > 0.5 Terapia : 1 - 2	4-7	Mayor de 6

GUÍA DE PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE FÁRMACOS ANTIMICÓTICOS EN MUESTRAS DE SUERO Y PLASMA POR ESPECTOMETRÍA DE MASAS

ANEXO N° 02**CONDICIONES DE MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS Y REACTIVOS**

MUESTRA/REACTIVO	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	CONSIDERACIONES ADICIONALES
Muestra sin preparación	Suero/Plasma, estable hasta 2 semanas a temperatura ambiente. 2-8 °C estable 4 semanas. < -18°C estable por 3 meses.	Sin referencias.
Muestra preparada (con adición de reactivos)	Estable hasta 1 semana a 2-8°C.	Proteger de la luz.
Controles de calidad	< -18 °C sellados, sin reconstituir. 2 – 8°C reconstituido por 3 semanas. < -18°C reconstituido por 3 meses.	Almacenar en contenedores de vidrio y protegidos de la luz.
Estándares	< -18 °C sellados, sin reconstituir. 2 – 8°C reconstituido por 3 semanas. < -18°C reconstituido por 3 meses.	Almacenar en contenedores de vidrio y protegidos de la luz.