



Development and Validation of a Method for the Analysis of Vancomycin in Human Serum Using Ultracentrifuge Protein Precipitation and UV Spectroscopy

Muhammad H. TARIQ¹*, Humaira NAUREEN¹, Nasir ABBAS² & Muhammad AKHLAQ³

¹ Riphah Institute of Pharmaceutical Sciences, 7th Avenue G-7/4, Islamabad Pakistan

² College of Pharmacy, University of Punjab, Lahore Pakistan

³ Department of Pharmacy, Abasyn University (Islamabad Campus), Islamabad Pakistan

SUMMARY. Vancomycin is a glycopeptide antibiotic which contains a phenolic chromophore thus it absorbs radiations in the ultra-violet range. This study was aimed to develop an analytical method for quantification of vancomycin in human serum. Vancomycin serial dilutions (200-12.5 µg/mL) were prepared in distilled water and studied for their UV absorption. Analytical method validation parameters like linearity, accuracy, precision, limit of detection and quantitation, and robustness were determined. Percentage recovery was studied from blank serum containing spiked drug levels after carrying out protein precipitation, ultracentrifuge drug extraction procedure and determining UV absorption. Post dose serum samples of 5 patients were studied for vancomycin levels using this method and by standard Abbott TDx drug analyzer and the results were compared using two (independent) sample t-test. The method was found linear in the concentration range of 12.5 to 200 µg/mL. Correlation coefficient (R²) value was 0.99997 and the regression equation was $y = 0.004x + 0.0055$. The % RSD for accuracy and inter and intra-day precision was $\leq 2.2\%$. The mean percentage accuracy of 5 studied concentrations with five samples was $99.4 \pm 1.6\%$. The method was robust to changes in temperature from 4 to 40 °C. The limit of detection and quantitation was found to be 0.99 and 3.02 µg/mL, respectively. The mean percentage recovery of spiked serum levels was $96.9 \pm 2.17\%$. The mean peak drug level in 5 patients was found to be 37.01 ± 3 and 37.09 ± 3.2 mg/L with this UV method and Abbott TDx drug analyzer. There was no statistically significant difference between the vancomycin levels obtained by this method and by Abbott TDx drug analyzer ($p = 0.968$). Hence UV-visible spectrophotometry can be used to study vancomycin drug levels in serum samples.

RESUMEN. La vancomicina es un antibiótico glicopeptídico que contiene un cromóforo fenólico, por lo que absorbe las radiaciones en la gama ultravioleta. Este estudio tiene como objetivo desarrollar un método analítico para la cuantificación de vancomicina en suero humano. Se prepararon diluciones en serie de vancomicina (200 a 12,5 mg/mL) en agua destilada y se estudió su absorción al UV. Se determinaron los parámetros de validación del método de análisis como linealidad, exactitud, precisión, límite de detección y cuantificación y robustez. El porcentaje de recuperación se estudió a partir de un suero blanco que contiene el fármaco después de realizar la precipitación de proteínas, la extracción de drogas con ultracentrifuga y determinar la absorción UV. Se estudiaron los niveles de vancomicina en muestras de de 5 pacientes utilizando este método y el analizador de medicamentos estándar Abbott TDx y los resultados se compararon mediante el t-test en dos muestras independientes. El método se encontró lineal en el intervalo de concentración de 12,5 a 200 mg/mL. El valor del coeficiente de correlación (R²) fue 0,99997 y la ecuación de regresión fue $y = 0.004x + 0,0055$. La exactitud RSD% y la precisión inter- e intra-día fue $\leq 2,2\%$. La media del % de precisión de las 5 concentraciones estudiadas con cinco muestras fue de $99,4\% \pm 1,6$. El método resultó robusto a cambios en la temperatura entre 4 y 40 °C. Se encontró que el límite de detección y cuantificación eran de 0,99 y 3,02 g/mL, respectivamente. El % de recuperación medio de los niveles séricos fue $96,9 \pm 2.17\%$. El nivel medio de fármaco pico en 5 pacientes se encontró que era $37,01 \pm 3$ y $37,09 \pm 3,2$ mg/L con este método y con el analizador Abbott TDx de drogas. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de vancomicina obtenidos por este método UV y por el analizador Abbott TDx de drogas ($p = 0,968$). Por lo tanto la espectroscopía UV visible se puede utilizar para estudiar los niveles de vancomicina en muestras de suero.

KEY WORDS: clinical pharmacokinetics, method development, protein precipitation, serum, therapeutic drug monitoring, UV, vancomycin.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: haseebrph@gmail.com