DETERMINACIÓN DE EFAVIRENZ EN SUERO HUMANO MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA

Assum, Débora M.[1] ; **Tantucci, Leonela A.**[1] ; **Orozco, María B.**[1] ; **Zarzur, Jorge**[1]

[1]Fundación para el Progreso de la Medicina, Córdoba, Argentina.

deboraassum@fpmlab.org.ar

INTRODUCCIÓN

La terapia antirretroviral (TARV), ha logrado una marcada reducción de la morbilidad y mortalidad en pacientes infectados por VIH y, a pesar del éxito que en la actualidad genera, se reportan fallas o discontinuación de la TARV, debido a una adherencia no adecuada o a complicaciones por efectos adversos y toxicidad a las drogas. En la TARV se utiliza cada vez más a Efavirenz (EFV) en asociación con otros agentes antirretrovirales para el tratamiento de VIH. Existe una gran variabilidad individual en la concentración plasmática de EFV, por lo cual el monitoreo de drogas terapéutico (TDM) contribuye a evitar la toxicidad asociada a este medicamento, como así también indicar falta de adherencia, considerando como rango terapéutico entre 1,0 – 4,0 μg/ ml.

OBJETIVOS

Desarrollar y validar un método analítico para dosar niveles sanguíneos de EFV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó un cromatógrafo líquido Agilent Technologies 1260 Infinity, con bomba cuaternaria, inyector automático y detector con arreglo de diodos. La separación cromatográfica se realizó en columna Eclipse X D B-C18, 5μm y 4.6 x 250 mm (Agilent Technologies). Los datos fueron recolectados y analizados a 254 nm. Para Efavirenz utilizamos estándar puro y N-propyl-para-HidroxiBenzoato como estándar interno. Para la extracción, se partió de 250 μl de suero y se aísla mediante extracción en fase sólida C18, se eluye completamente con metanol y se lleva al cromatógrafo para su determinación. La fase móvil está compuesta por buffer y acetonitrilo (40:60 v/v), con un flujo isocrático de 1.0 ml/min. Se inyectan 45 μl del eluido, la temperatura en la columna está controlada a 37º C. El tiempo de retención de Efavirenz es de 7 minutos en las condiciones descriptas anteriormente (Figura 1).

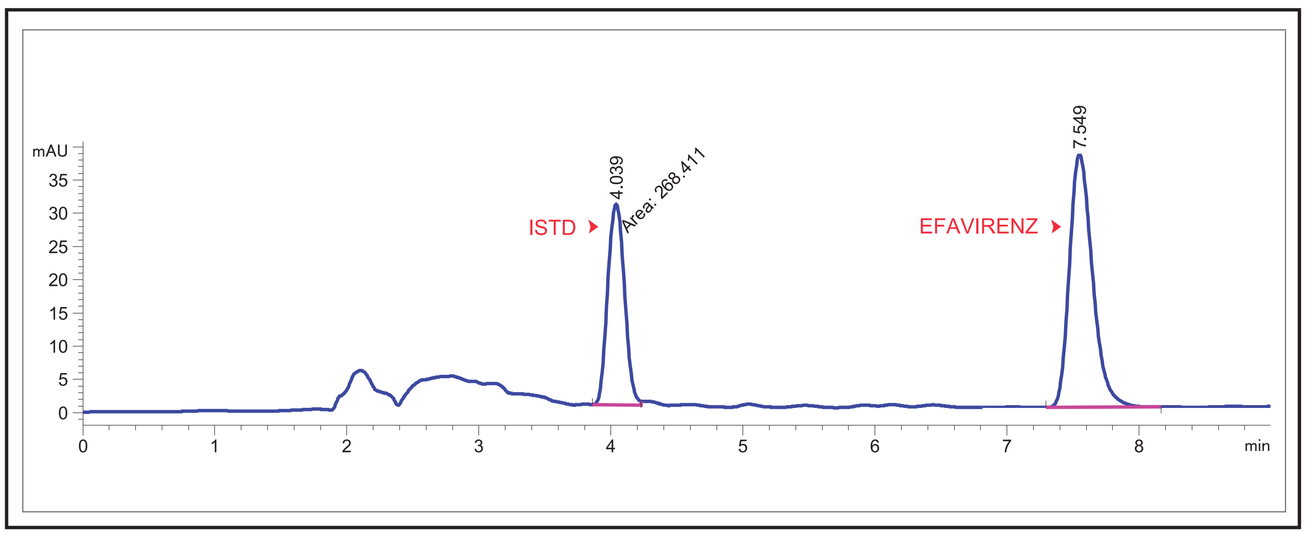

Figura 1 Cromatograma de EFV y estándar interno.

RESULTADOS

La validación de un método analítico es un paso fundamental para asegurar que los resultados obtenidos son confiables. Se debe realizar una **Validación Prospectiva** generando, a través del análisis de datos experimentales, los distintos parámetros analíticos a evaluar. Se determinó el rango de linealidad desde 0,2 a 20.0 μg/ml, con una ecuación de la recta: Y= 0,297X -0,004; r^2 0.999. Se establece precisión a dos niveles, obteniendo en precisión intermedia un CV: 5,52 (1,57 μg/ml) y un CV: 1,37 (4,71 μg/ml). Los límites de detección y de cuantificación se obtuvieron a partir de la curva de linealidad, LOD (3Sa/b) 0,01 μg/ ml; LOQ (10Sa/b) 0,05 μg/ ml. Consideramos en todos los estadísticos un nivel de significancia del 95%. Se obtuvo una recuperación del 102%.

CONCLUSIÓN

El método desarrollado nos permite obtener resultados confiables con buena precisión, veracidad y exactitud, el cual puede ser aplicable al laboratorio clínico de rutina. Además, el TDM de EFV puede asociarse principalmente a los parámetros de laboratorio presentes en la actualidad para seguimiento de pacientes infectados con VIH, detectando de manera anticipada posibles signos de toxicidad o falta de adherencia.