DOI: https://doi.org/10.53287/bfoi3796ig50o

Validación de un método bioanalítico para la determinación de vancomicina en plasma humano por HPLC-UV y comparación con medidas obtenidas por LC-MS/MS

Analytical method for vancomycin determination in human plasma through HPLC-UV, using LC-MS/MS data comparison for its validation

Diana Fernanda Quezada Jácome[1], https://orcid.org/0009-0003-8899-7203
Rafael Linden[2], https://orcid.org/0000-0002-6966-5073
Ana Paula Grando[2]; https://orcid.org/0009-0009-2400-0834
Samantha Pachar[1]; https://orcid.org/0009-0001-1275-9810

[1]Maestría en Farmacia, mención Farmacia Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca, Cuenca, Ecuador
[2]Maestría en Análisis Toxicológico, Facultad de Farmacia, Universidad Feevale, Novo Hamburgo, Brasil

*Autor de correspondencia: dianafquezadaj@gmail.com

Fecha de recepción: 13 junio 2025 **Fecha de aceptación: 28 diciembre 2025**

Resumen

Objetivo. Validar un ensayo de cromatografía líquida fácilmente implementable para aplicación clínica en la monitorización terapéutica del fármaco vancomicina

Materiales y métodos. La vancomicina se extrajo del plasma, después de la precipitación de proteínas, con ácido perclórico y lavado con diclorometano. La separación se realizó en una columna de fase reversa con elución isocrática y detección ultravioleta. Para la comparación entre métodos se utilizó un banco de plasma del laboratorio de referencia y los resultados se analizaron a través del Software estadístico Medicalc.

Resultados. El tiempo total de ejecución cromatográfica fue de 22 minutos. El ensayo fue lineal en el rango de 2.5 a 100 mcg/mL; la exactitud fue del 96,8 -113,6 %, la precisión intraensayo del 4,65 - 9,30 % y la precisión interensayo del 6,84 - 7,50 %. El ensayo se aplicó a 40 muestras de plasma almacenadas a -80 grados centígrados. Los resultados tuvieron una correlación positiva con

ausencia de diferencias sistemáticas y proporcionales al ser comparados con el método de referencia LC – MS/MS.

Conclusiones. El ensayo fue validado y, gracias a su sencilla configuración, puede implementarse en laboratorios clínicos con el objetivo de individualizar farmacocinéticamente las dosis de vancomicina, presentando el método alta correlación con técnicas altamente sensibles. El método resultó selectivo, sensible y de fácil implementación.

Palabras clave: HPLC - UV; LC – MS/MS; vancomicina; monitorización fármacoterapéutica (TDM).

Abstract

Objective. To validate a vancomycin monitoring assay through HPLC-UV for its clinical therapeutic application.

Materials and methods. Vancomycin was extracted from human plasma by protein precipitation using perchloric acid and dichloromethane wash. HPLC-UV separation was performed on a reverse-phase column with isocratic elution and UV detection. For method comparison, a human plasma was obtained from a reference laboratory and the results were analysed using Medicalc statistical software.

***Results*.** The HPLC-UV analysis time was 22 minutes. The assay was linear in the range of 2.5 to 100 mcg/mL; the accuracy was 96.8 - 113.6 %, the intra-assay precision was 4.65 - 9.30% and, the inter-assay precision was 6.84 - 7.50%. The assay was applied on 40 human plasma samples, the results were proportional and showed a positive correlation with no systematic differences to the determined by LC-MS/MS reference method.

Conclusion. The vancomycin detection assay using HPLC-UV was validated, showing high correlation with highly sensitive techniques (LC-MS/MS). The method proved to be selective, sensitive, and easy to implement in clinical laboratories with the aim of pharmacokinetically individualizing vancomycin doses.

***Keywords*:** HPLC-UV; LC-MS/MS; vancomycin; therapeutic drug monitoring (TDM).

INTRODUCCIÓN

La monitorización farmacoterapéutica (TDM) es una herramienta que busca mejorar los resultados clínicos de los pacientes, minimizando la toxicidad y maximizando la efectividad de los tratamientos a través de la individualización de los mismos. Su uso se centraliza en los fármacos con estrecho margen terapéutico o con perfil de eventos adversos potencialmente conocidos (Escobar, 2016; Pazos et al, 2014).

La vancomicina es un glucopéptido tricíclico, empleado para el tratamiento de infecciones graves causadas por bacterias Grampositivas multirresistentes, particularmente organismos meticilino-resistentes (MRSA), como Staphylococcus aureus y también es utilizada en pacientes alérgicos a los antibióticos β lactámicos. El perfil farmacocinético de la vancomicina es complejo y puede ser caracterizado por modelos de uno, dos o tres compartimentos. Posee una escasa absorción por vía oral, por lo que debe ser administrada por vía venosa para la terapia de infecciones sistémicas. La vida media en pacientes con función renal normal es aproximadamente 6 horas. Un 30% de la dosis se une a proteínas plasmáticas, el 80-90% es eliminado sin cambios por filtración glomerular dentro de las 24 horas (Marks et al., 2019; Tsutsuura et al., 2021).

El uso de la vancomicina está frecuentemente relacionado con efectos adversos como hiperemia facial aguda, nefrotoxicidad y ototoxicidad. Al tener un rango terapéutico muy estrecho, el monitoreo farmacoterapéutico resulta necesario para maximizar la eficiencia y minimizar los efectos tóxicos (Marks et al., 2019). El empleo de TDM se asocia con tasas significativamente más altas de eficacia clínica y tasas más bajas de nefrotoxicidad; la monitorización es precisa en pacientes que reciben dosis altas, en aquellos que poseen alto riesgo de toxicidad, en los que tienen una función renal alterada y en los casos en el que el tiempo de tratamiento es prolongado (Marks et al., 2019). Se recomiendan concentraciones valle y pico del fármaco de 15 a 20 mg/L, respectivamente. Los niveles plasmáticos deben ser determinados en condiciones de estado estacionario, aproximadamente antes de la cuarta dosis (Ye et al., 2013).

Se han descrito numerosos métodos para la cuantificación de antibióticos en muestras biológicas como los espectrofotométricos, inmunológicos, biológicos y cromatográficos; siendo la cromatografía líquida (HPLC) el método de elección (Luci et al., 2020). Los detectores más empleados para la cuantificación vancomicina en suero y plasma han sido el detector ultravioleta (HPLC-UV) y espectrometría de masas en tándem (HPLC-MS/MS); siendo esta última la técnica más sensible, sin embargo, resulta muy costosa por el equipo y por la necesidad de especialistas altamente calificados.

Por lo tanto, el uso de HPLC con un detector ultravioleta (HPLC-UV), resulta en una alternativa adecuada para la cuantificación de vancomicina en plasma, con alta sensibilidad y selectividad, que proporciona resultados robustos y que pueden ser comparables con HPLC-MS/MS, con un tratamiento adecuado de las muestras, siendo menos costosa y de fácil aplicación en el laboratorio.

En el presente trabajo, se describe el desarrollo y validación de un método bioanalítico para la cuantificación de vancomicina en plasma para su uso clínico en TDM, a través de HPLC – UV. La validación del método se realizó de acuerdo con las directrices de la FDA mediante la evaluación de la linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad. Adicionalmente, se procedió a comparar concentraciones de vancomicina de un banco de muestras de plasma obtenidas de un laboratorio de referencia, comparando el método validado con LC - MS/MS, los datos fueron ingresados en el Software estadístico Medicalc para su valoración.

MATERIAL Y MÉTODOS

Reactivos. El clorhidrato de vancomicina se adquirió de Sigma-Aldrich (Saint Louis, EEUU). El metanol, el ácido ácido perclórico, el ácido ortofosfórico, el diclorometano, el acetonitrilo y el fosfato de amonio se adquirieron de Merck (Darmstadt, Alemania). El agua ultrapura se obtuvo mediante el instrumento Milli-Q®, proporcionado por Merck-Millipore (Burlington, EEUU). Para la validación del método, se obtuvo plasma humano a partir de muestras agrupadas de voluntarios sanos.

Preparación de soluciones, muestras calibradoras y de control. La solución madre de vancomicina se preparó en agua ultrapura y la solución de trabajo se preparó en plasma humano en blanco. Las soluciones patrón de calibración y las muestras de control de calidad se prepararon mediante dilución seriada con plasma. Las concentraciones finales de las soluciones patrón para la curva de calibración fueron 2.5, 5, 10, 25, 50 y 100 ug/mL, y las de las muestras de control de calidad (QC) fueron 75, 17.5 y 3.75 ug/mL respectivamente para el control de calidad superior (HQC), el control de calidad medio (MQC), el control de calidad inferior (LQC). El límite inferior de cuantificación (LLOQ) fue de 2.5 ug/mL.

Extracción de muestras de plasma. La vancomicina se extrajo a través de precipitación de proteínas de 300 µL de muestra de plasma con 15 µL de ácido perclórico al 70 %. La mezcla se agitó en vórtex durante 1 minuto y se centrifugó a 10,500 g durante 10 minutos.

DOI: https://doi.org/10.53287/bfoi3796ig50o

El sobrenadante se transfirió a un tubo de polipropileno y se lavó con 1 mL de diclorometano, mezclando durante 1 minuto y centrifugando a 10,500 g durante 2 minutos. Se transfirió el sobrenadante a viales y se inyectó una alícuota de 50 µL en el equipo HPLC para su análisis.

Instrumentación y condiciones cromatográficas. Los análisis cromatográficos se realizaron con un sistema de HPLC Shimadzu Clase VP (Kioto, Japón), controlado por el software Clase VP 6.13 SP2. Se utilizó como fase móvil una mezcla de fosfato de amonio 50 mM (ajustado a un pH de 2,2 con ácido ortofosfórico 85%) y acetonitrilo (88:12, v/v). La separación se realizó isocráticamente con un caudal de 0,36 mL/min en una columna XBridge Shield C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 µm), proporcionada por Waters (Massachusetts, EEUU), a temperatura de 25 grados centígrados y detección UV a 240 nm. El tiempo de ejecución fue de 20 minutos.

Linealidad. Los modelos de calibración se evaluaron en 6 niveles, con análisis quintuplicado en los niveles de 2.5, 5, 10, 25, 50 y 100 ug/mL. Las curvas de calibración se construyeron calculando las razones del área de pico del analito con las concentraciones nominales de las muestras de calibración. La homocedasticidad de los datos de calibración se evaluó con la prueba F en el nivel de confianza del 95%, y las curvas de calibración se ajustaron utilizando regresión lineal de mínimos cuadrados utilizando varios factores de ponderación (1/x, 1/x2, 1/x0.5 1/y, 1/y2, 1/y0.5). Los modelos de calibración se evaluaron mediante sus coeficientes de correlación (r 2) y el error relativo porcentual acumulado (∑%RE). Se prepararon curvas de calibración diarias con las mismas concentraciones (una sola medición por concentración) para cada lote de muestras de validación y de pacientes.

Precisión y exactitud. Se analizaron por quintuplicado muestras de plasma con vancomicina en concentraciones bajas (QCL), medias (QCM) y altas (QCH) durante 3 días. Las concentraciones nominales de QCL, QCM y QCH fueron 3.75, 17.5 y 75 ug/mL respectivamente. La precisión intraensayo y la precisión interdía se calcularon mediante ANOVA y se expresaron como CV%. La exactitud se calculó como el porcentaje de la concentración nominal medida en el procedimiento analítico. Los criterios de aceptación para la exactitud fueron valores medios dentro del ±15% del valor teórico y para la precisión, un CV máximo del 15%.

Límite inferior de cuantificación. Una muestra de control de calidad de plasma independiente, en el punto más bajo de la curva de calibración (2.5 ug/mL), se incluyó en los experimentos de exactitud y precisión (control de calidad en el límite de cuantificación,

LLOQ) y se analizó por triplicado en cinco días diferentes. Los criterios de aceptación establecidos para el límite de cuantificación fueron una exactitud del 100 ± 20 % del valor nominal y un CV máximo del 20 %.

Selectividad. La selectividad se evaluó analizando seis muestras de plasma blanco obtenidas de seis fuentes humanas diferentes. Se prepararon como se describió anteriormente para detectar la presencia de picos cromatográficos que pudieran interferir con la detección de vancomicina.

Estabilidad. Para evaluar la estabilidad en el muestreador automático de HPLC, se extrajeron muestras de control de plasma que contenían vancomicina en los niveles de concentración de QCL y QCH, se agruparon y se inyectaron a intervalos de tiempo de 1 hora, durante 10 horas. La estabilidad de los analitos se probó mediante análisis de regresión que graficaba las áreas de pico absolutas correspondientes a cada compuesto en cada concentración frente al tiempo de inyección. Utilizando la regresión lineal obtenida, se calculó la concentración después de 10 horas. Una disminución o aumento de hasta el 10% en las áreas de pico medidas se consideró aceptable. Para estimar la estabilidad de congelación-descongelación, se agruparon muestras de plasma de pacientes para obtener dos niveles de controles, a concentraciones bajas y altas. Se analizaron por triplicado antes y después de 3 ciclos de congelación-descongelación. Las diferencias en las concentraciones medidas desde el final hasta el inicio de la serie de hasta el 15% se aceptaron como indicación de estabilidad.

Aplicación del método y comparación con HPLC - MS/MS. El método HPLC - UV se aplicó a la cuantificación de vancomicina en 40 muestras de plasma de pacientes que recibieron el antibiótico. Las muestras se encontraban almacenadas a -80 grados centígrados, y fueron valoradas previamente en el laboratorio de referencia (Laboratorio de Análisis Toxicológico-Universidad Feevale, Brasil) por LC-MS/MS. Los resultados obtenidos al tratar las muestras por los dos métodos se compararon mediante regresión de Passing-Bablok y análisis de Bland Altman., utilizando el software Medicalc (Ostende, Bélgica).

El método de comparación fue tomado de un laboratorio de referencia (Laboratorio de Análisis Toxicológico Feevale), y se fundamenta en la extracción de vancomicina a través de precipitación de proteínas y posterior análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia asociada a espectrometría de masas secuencial (LC-MS/MS). Se utilizó una columna Acquity BEH C8 (100 x 2.1 mm, 1.7 um), proporcionada por Waters (Massachusetts, EEUU). La fase móvil estuvo en razón de 0.4 mL/minuto y constituida por

DOI: https://doi.org/10.53287/bfoi3796ig50o

dos soluciones, la primera (A), incluyó agua ultra pura y 0.1% de ácido fórmico y la segunda (B) compuesta por acetonitrilo y 0.1% de ácido fórmico. La temperatura aplicada fue de 45 grados centígrados, volumen de inyección de 0.5 uL y el tiempo de análisis de 3 minutos. El tiempo de retención de la vancomicina fue de 0.97 minutos. Se empleó como patrón interno atenolol deuterado (atenolol-D7), cuyo tiempo de retención fue de 0.98 minutos.

RESULTADOS

Cromatografía y preparación de muestras

El tiempo de retención para la vancomicina fue de 16.4 minutos (Figura 1), sin picos de interferencia presentes en las muestras en blanco. La técnica de preparación de la muestra basada en la precipitación de proteínas seguida del lavado con un solvente orgánico proporcionó extractos con un alto grado de pureza, aumentando potencialmente la vida útil de la columna.

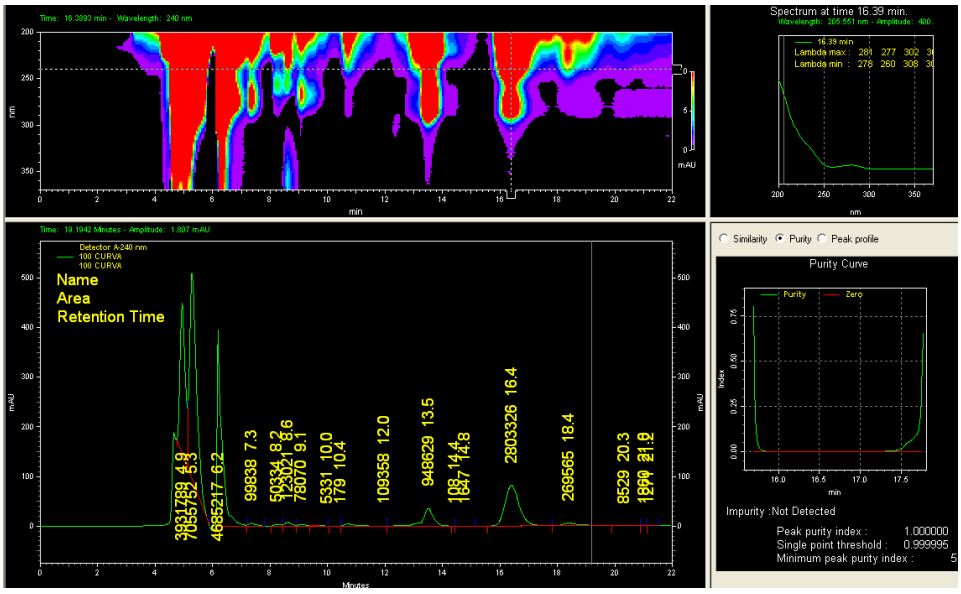

Figura 1. Cromatograma, tiempo de retención de la vancomicina.

Validación del método

Se demostró linealidad en el rango de 2.5 a 100 ug/mL de vancomicina cubriendo el amplio rango de concentraciones. Los datos de calibración presentaron una heterocedasticidad significativa (F = 208,85; Fcrit (5,5; 0,99) = 10,97) y el mejor factor de ponderación fue 1/x, con un ∑%RE de -1,74 x $10^{-}13$ y la ∑%RE de la regresión no

ponderada fue de -2,50 x 10 +01. Los coeficientes de correlación fueron superiores a 0,9999, lo que muestra una linealidad aceptable.

La exactitud del método se situó en el rango del 96,8-113,6 %, la precisión intraensayo fue del 4,65-9,30 % y la precisión interensayo fue del 6,84-7,50 %. La muestra LLOQ presentó una exactitud del 103,7%, una precisión intraensayo del 7,01% y una precisión interensayo del 18,49%.

Las condiciones cromatográficas, empleando una columna de fase reversa y elución isocrática con detección ultravioleta, demostraron ser capaces de separar selectivamente analitos y compuestos endógenos. No se detectaron picos de interferencia en las muestras en blanco analizadas. No se observó inestabilidad de los analitos en ninguna de las condiciones analizadas, lo que demuestra la viabilidad de su procesamiento en condiciones habituales de laboratorio.

Los extractos conservados en el muestreador automático se mantuvieron estables, con una variación máxima en la razón de área de pico del 97,6 % tras 10 horas, con respecto a los valores iniciales de la serie. Por lo tanto, es posible realizar extracciones simultáneas de varias muestras, almacenándolas a temperatura ambiente antes de proceder a la inyección. Además, no se observó inestabilidad significativa superior al 15% tras tres ciclos de congelación-descongelación.

Tabla 1. Parámetros de validación del método: límite de detección, límite de cuantificación y linealidad.

LOD (ug/mL)	**LOQ** (ug/mL)	**Linealidad** (ug/mL)	**Ecuación NP**	**Ecuación P (1/x)**	**r^2**
2.5	2.5	2.5 - 100	m= 29879 i= 10815 ER= -2.5 E+01	m= 30278 i= -1998 ER= -1.74 E -13	0.9997

Tabla 2. Parámetros de validación del método: precisión y exactitud.

Muestra QC	**Concentración** (ug/mL)	**Precisión (CV%)**		**Exactitud (%)**
		Intra ensayo	**Inter ensayo**	
LLOQ	2.5	7.01	18.49	103.7
QCL	3.5	9.30	7.50	113.6
QCM	17.5	4.65	7.24	104.4
QCH	75	9.05	6.84	96.8

DOI: https://doi.org/10.53287/bfoi3796ig50o

Tabla 3. Estabilidad de la muestra procesada en el muestreador automático y en ciclos de congelación-descongelación.

Muestra QC	Concentración (ug/mL)	Estabilidad en el automuestreador	Estabilidad ciclos de congelación
		Concentración después de 10 horas (%)	Cambio de concentración después del tercer ciclo (%)
QCL	3.5	-7.87	5.45
QCH	75	-1.76	1.51

Aplicación del método y comparación con HPLC - MS/MS

Se procesaron 40 muestras con los métodos descritos anteriormente; de las cuales una fue omitida por presentar concentraciones inferiores al límite de cuantificación para el método validado de HPLC – UV. Por lo tanto, se procesaron 39 concentraciones en el software estadístico Medicalc mediante regresión de Passing-Bablok y el test de Bland Altman.

En la regresión de Passing Bablok se obtuvo un intercepto de 1.291, IC 95% (-0.7204 – 3.3500), y una inclinación de la recta de 0.9385, IC 95% (0.8112 – 1.0959). Por lo que se puede decir que no existe una diferencia sistemática, ni diferencias proporcionales significativas entre los dos métodos bioanalíticos. Además, el coeficiente de correlación de rangos de Spearman fue de 0.92, p value <0.0001, en un intervalo de confianza de 0.853 – 0.958; por lo que se evidencia una correlación positiva directamente proporcional entre los dos métodos (Figura 2).

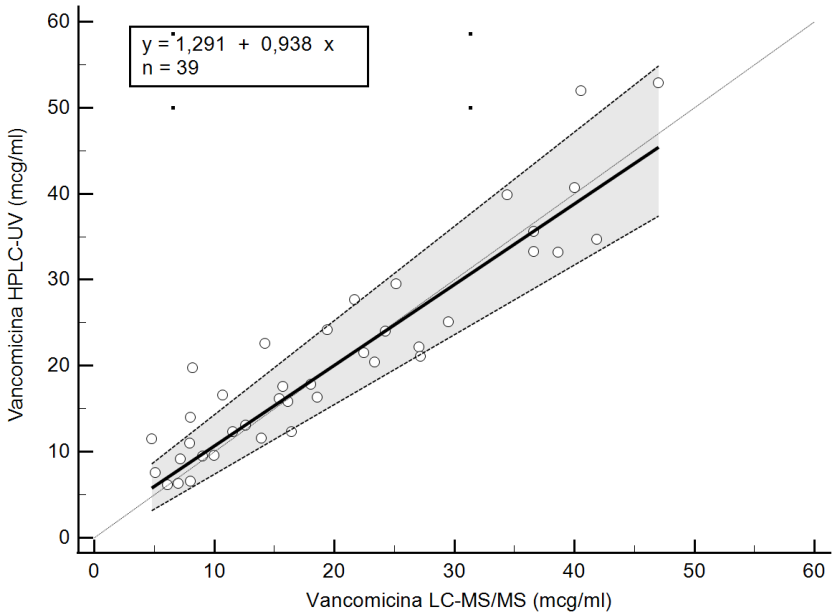

Figura 2. Regresión de Passing Bablok Vancomicina HPLC-UV y LC – MS/MS

El test de Bland Altman muestra una elevada dispersión entre las diferencias de los dos métodos, la media de las diferencias fue de -8.6 con un intervalo de confianza del 95% (-61.2 a 43.9) (Figura 3).

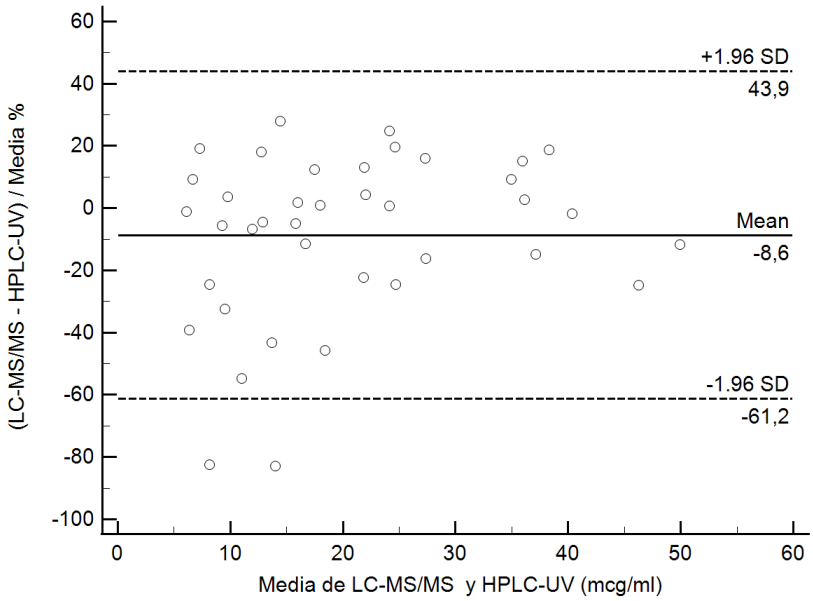

Figura 3. Análisis de Bland Aitman Vancomicina HPLC-UV y LC – MS/MS

DISCUSIÓNES

Para la validación del método bioanalítico, fue indispensable la correcta selección de la técnica de extracción, con la finalidad de evitar al máximo la pérdida del analito. Adicionalmente, por la naturaleza de la vancomicina, las condiciones cromatográficas fueron críticas para lograr separar y detectar a la molécula en la matriz biológica analizada. Por ende, la precipitación de proteínas resultó en una técnica sencilla, rápida, y de bajo costo; asimismo las adecuadas condiciones cromatográficas aplicadas, permitieron la detección y cuantificación de vancomicina a través de picos cromatográficos simétricos y bien definidos; razón por la cual el método puede ser fácilmente aplicado en un laboratorio que no disponga equipos como LC - MS/MS. Jang et al. (2019) en su estudio de comparación de las técnicas de HPLC - UV y LC - MS/MS para la determinación de zaltoprofeno, ratifica las bondades de emplear HPLC – UV por el costo menor del equipo, el tratamiento de la muestra más sencillo y la fácil aplicabilidad de los métodos en laboratorios de escasos recursos. Sin embargo, mencionan que parámetros como el tiempo de ejecución difirió entre los métodos, siendo más prolongado con HPLC – UV (20 minutos) que con LC – MS/MS (10 minutos), situación que fue similar

DOI: https://doi.org/10.53287/bfoi3796ig50o

en el análisis de vancomicina, pues el tiempo de ejecución fue de 20 y 3 minutos respectivamente.

En cuanto a la validación del método bioanalítico y posterior comparación con el método de referencia LC-MS/MS, se observaron que los resultados presentaron una correlación positiva, con ausencia de diferencias sistemáticas y proporcionales entre los dos métodos. Sin embargo, la diferencia de las medias indica una dispersión considerable de los datos, justificada por la diferencia en la sensibilidad entre las dos técnicas. Luci et al. (2020), para establecer la fiabilidad de un método validado para la cuantificación de daptomicina HPLC-UV, lo comparó con un método de referencia LC–MS/MS midiendo las concentraciones de daptomicina en 122 muestras de plasma humano, en donde el análisis de correlación mostró valores de alta significancia estadística, con un valor r2 = 0,9474, una pendiente de 1,052 y una intersección con el eje y de 0,8543. En ese sentido se puede apreciar que la situación fue similar con los resultados obtenidos con la comparación de las técnicas para la cuantificación de vancomicina. Asimismo, Paal et al. (2019) comparó el método de HPLC - UV para cuantificar meropenem y piperacilina, con LC - MS/MS; obteniendo que ambos métodos mostraron resultados comparables y por ende el autor recalca que el análisis HPLC - UV es una metodología TDM adecuada para el análisis de antibióticos betalactámicos y otros analitos en centros sin conocimientos específicos de TDM basado en LC-MS/MS.

CONCLUSIÓNES

El presente trabajo proporciona un método completamente validado, sencillo y de fácil implementación para la determinación de vancomicina en muestras de plasma humano utilizando un equipo HPLC–UV; protocolo que puede ser adaptado a la aplicación de TDM para garantizar eficacia terapéutica y disminuir toxicidad en tratamientos con vancomicina.

REFERENCIAS

Elberdín Pazos, L., Outeda Macías, M., Salvador Garrido, P., & Martín Herranz, M. (2014). La monitorización farmacocinética como nueva herramienta para individualizar la terapia anti-TNF. *Farmacia Hospitalaria*, 38(2), 83-85.

Escobar, L. (2016). Monitorización terapéutica de fármacos y aspectos prácticos de farmacocinética. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(5), 605-614. https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2016.09.006

Food and Drug Administration. (2024). *Q2(R2) Validation of Analytical Procedures*. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/q2r2-validation-analytical-procedures

Jang, J.-H., Jeong, S.-H., Cho, H.-Y., & Lee, Y.-B. (2019). Comparison of UPLC-MS/MS and HPLC-UV methods for the determination of zaltoprofen in human plasma. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, *49*(6), 613-624. https://doi.org/10.1007/s40005-018-00416-w

Luci, G., Cucchiara, F., Ciofi, L., Lastella, M., Danesi, R., & Di Paolo, A. (2020). A new validated HPLC-UV method for therapeutic monitoring of daptomycin in comparison with reference mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *182*, 113132. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113132

Marks, L., Duchein, S., González, I. I., Suárez, H. A., & Rivolta, S. (2019). Validación de un método inmunológico para la determinación de vancomicina en líquido cefalorraquídeo. *Revista de la Facultad de Ciencias Médicas de Córdoba*, 76(2), 101.https://doi.org/10.31053/1853.0605.v76.n2.23550

Paal, M., Heilmann, M., Koch, S., Bertsch, T., Steinmann, J., Höhl, R., Liebchen, U., Schuster, C., Kleine, F. M., & Vogeser, M. (2019). Comparative LC-MS/MS and HPLC-UV analyses of meropenem and piperacillin in critically Ill patients. *Clinical Laboratory*, *65*(9), 1675-1680. https://doi.org/10.7754/Clin.Lab.2019.190210

Tsutsuura, M., Moriyama, H., Kojima, N., Mizukami, Y., Tashiro, S., Osa, S., Enoki, Y.,Taguchi, K., Oda, K., Fujii, S., Takahashi, Y., Hamada, Y., Kimura, T., Takesue, Y., & Matsumoto, K. (2021). The monitoring of vancomycin: A systematic review and meta-analyses of area under the concentration-time curve-guided dosing and trough-guideddosing. *BMC Infectious Diseases*, 21, 153. https://doi.org/10.1186/s12879-021-05858-6

Ye, Z.-K., Tang, H.-L., & Zhai, S.-D. (2013). Benefits of therapeutic drug monitoring of vancomycin: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*, 8(10), e77169. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077169