ARTYKUŁ POGLĄDOWY / REVIEW PAPER
Otrzymano/Submitted: 05.12.2025 • Zaakceptowano/Accepted: 19.12.2025

© Akademia Medycyny

Przegląd metod analitycznych oznaczania stężenia meropenemu w matrycach biologicznych z wykorzystaniem techniki LC-MS/MS

Review of analytical methods for determining the concentration of meropenem in biological matrices using the LC-MS/MS technique

Julia Kerner[1], Hanna Urjasz[2]

[1] Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Studenckie Towarzystwo Naukowe, Studenckie Koło Naukowe Farmacji Klinicznej, https://ror.org/02zbb2597

[2] Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, https://ror.org/02zbb2597

Streszczenie

Szeroki zakres działania przeciwbakteryjnego meropenemu stanowi, że jest on dobrym lekiem stosowanym w przypadku ciężkich zakażeń bakteryjnych, zwłaszcza opornych na inne antybiotyki. Jednak ze względu na niestabilność roztworów meropenemu oraz rosnącą obecnie oporność na antybiotyki warto jest kontrolować jego poziom stężenia we krwi. W tym celu dokonano przeglądu metod oznaczania stężenia meropenemu za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrem mas (LC-MS/MS). Przedstawione dane wskazują na wykorzystanie różnych matryc biologicznych pochodzenia ludzkiego do oznaczenia stężeń meropenemu. Do badań stosuje się najczęściej kolumnę z odwróconym układem faz C18 o parametrach 2,1 x 100 mm; 1,7 µm, natomiast fazę ruchomą stanowi 0,1% roztwór kwasu mrówkowego w wodzie i acetonitrylu. Wzorcem wewnętrznym jest deuterowany izotop meropenemu. Zwalidowane metody analityczne charakteryzujące się wysoka czułością oraz nieskomplikowanym procesem przygotowania próbki pozwalają na szybkie i wiarygodne oznaczanie stężeń meropenemu w próbce pacjenta. *(Farm Współ 2025; 18: 290-298) doi: 10.53139/FW.20251838*

Słowa kluczowe: chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrem mas (LC-MS/MS), oznaczanie stężeń meropenemu, terapeutyczne monitorowanie stężenia leku (TDM)

Abstract

The wide range of antibacterial effects of meropenem makes it a good drug to use for severe bacterial infections, especially those resistant to other antibiotics. However, due to the instability of meropenem solutions and the current growing resistance to antibiotics, it is worth controlling its level of concentration in the blood. To this end, methods for determining the concentration of meropenem using liquid chromatography coupled with a mass spectrometer (LC-MS/MS) were reviewed. The data presented indicate the use of different biological matrices of human origin to determine meropenem concentrations. The most commonly used column for testing is a column with an inverted C18 phase system with parameters of 2.1 x 100 mm; 1.7 µm, while the mobile phase is a 0.1% solution of formic acid in water and acetonitrile. The internal standard is the deuterated isotope of meropenem. Validated analytical methods with high sensitivity and uncomplicated sample preparation process allow for fast and reliable determination of meropenem concentrations in the patient's sample. *(Farm Współ 2025; 18: 290-298) doi: 10.53139/FW.20251838*

Keywords: liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry LC MS/MS, determination of meropenem concentrations, therapeutic drug monitoring (TDM)

ORCID: Julia Kerner 0009-0007-3349-1685, Hanna Urjasz 0000-0002-5934-484X

Wstęp

Meropenem jest antybiotykiem β-laktamowym należącym do grupy karbapenemów. Charakteryzuje się szerokim spektrum działania zarówno na bakterie Gram-dodatnie, jak i Gram-ujemne. Poprzez hamowanie syntezy ściany komórkowej bakterii wykazuje działanie bakteriobójcze. Działanie to jest zależne od czasu, tzn. że im dłużej stężenia we krwi utrzymują się powyżej minimalnego stężenia hamującego (MIC) tym mniejsza szansa na niepowodzenie terapii oraz mniejsze ryzyko wystąpienia oporności drobnoustrojów [1]. Antybiotyk ten ma szerokie zastosowanie w przypadku leczenia ciężkich zakażeń szpitalnych, w stanach zagrażających życiu. Meropenem wykazuje też niską toksyczność, do głównych działań niepożądanych zaliczane są podrażnienie w miejscu podania, biegunka, wymioty, nudności, świąd, drgawki, podwyższenie poziomów aminotransferaz wątrobowych i kreatyniny w surowicy oraz azotu mocznikowego we krwi [2].

Niska biodostępność meropenemu warunkuje stosowanie podania dożylnego. Meropenem charakteryzuje się dużą polarnością, dodatkowo szybko przenika do większości tkanek, a także m.in. przez barierę krew-mózg, a tym samym do płynu mózgowo-rdzeniowego [1,3]. Niski stopień wiązania z białkami (około 2%) warunkuje obecność dużej frakcji leku wolego, aktywnego farmakologicznie we krwi. Meropenem wydalany jest głównie za pomocą nerek w postaci niezmienionej (70%).

Ze względu na rosnącą oporność bakterii niezwykle ważne jest terapeutyczne monitorowanie stężeniem leku (TDM). Na konieczność prowadzenia TDM w grupie pacjentów w stanie krytycznym i z zaburzeniami czynności nerek wskazuje Steffens i wsp. [1]. W tym celu niezbędne jest zastosowanie odpowiedniej czułej metody, a jednocześnie łatwej oraz możliwej do wykorzystania w praktyce klinicznej.

Celem niniejszego przeglądu jest przedstawienie dostępnych w literaturze metod analitycznych tandemowej chromatografii cieczowej LC-MS/MS do oznaczania stężeń meropenemu w różnych matrycach biologicznych. Publikacje wyszukiwano w bazie Medline za pomocą wyszukiwarki PubMed.

Przygotowanie próby

W większości dostępnych źródeł literaturowych przygotowanie prób polegało na prostej metodzie denaturacji matrycy biologicznej przy użyciu rozpuszczalników organicznych, np.: metanolu [4,10,14,21,24,27,28,32,35,37], acetonitrylu [5,8,9,11,15,17-19,25,26,29,36,38,39] lub mieszaniny obu w różnych stosunkach objętościowych [6,12,34]. Paal i wsp., Nowak-Kózka i wsp. oraz Schuster i wsp. zaproponowali mieszaninę metanolu lub acetonitrylu i eteru tert-butylowo-metylowego do strącenia białek [7,13,16]. Z kolei Berska i wsp. oraz Chen i wsp. zastosowali fazę ruchomą jako roztwór denaturujący [23,33]. Do przygotowania próbek znalazła również zastosowanie kolumna ekstrakcyjna Cyclone HILIC – metoda ekstrakcji online tzn. w trakcie rozdziału na kolumnie [3].

Wzorzec wewnętrzny IS

Jako wzorzec wewnętrzny w większości badań wykorzystano deuterowany izotop meropenemu [3-14,16-20,23-39]. Zastosowanie znalazły również norwankomycyna [15] oraz ceftizoksym [21].

Warunki chromatograficzne

Faza ruchoma

Najczęściej wykorzystywaną fazą ruchomą był 0,1% roztwór kwasu mrówkowego w wodzie oraz 0,1% roztwór kwasu mrówkowego w acetonitrylu [5,14,18,23,25,26,30,35,39]. W niektórych analizach jako jeden ze składników fazy ruchomej zastosowano acetonitryl [4,11,15,22,36]. Wykorzystywano również metanol [10,12,16,21] oraz jego mieszaninę z acetonitrylem w różnym stosunku objętościowym [3,13]. Niektóre źródła uwzględniały dodatek octanu amonu o stężeniu 2 mM/l lub 10 mM/l do mieszanin kwasu mrówkowego w wodzie, acetonitrylu czy metanolu [3,12,27-29,32,34,38]. W pojedynczych badaniach można również zauważyć dodatek mrówczanu amonu do wodnego roztworu kwasu mrówkowego [7,9,10,16,19,37]. We wszystkich ujętych źródłach literaturowych wykorzystano do rozdziału elucję gradientową fazy ruchomej [3-40].

Kolumna

Rozdział chromatograficzny przeprowadzano na kolumnach z odwróconym układem faz. Najczęściej używano kolumny C18 o parametrach 2,1 x 100 mm; 1,7 μm [15,34,36,38,39]. W dostępnej literaturze pojawiły się również kolumny C18-HSS (ang. *High Strength Silica*) T3 [18,26,29,37]. Ze względu na wysoką polarność meropenemu niektórzy badacze zdecydowali się na zastosowanie kolumny typu HILIC, która eliminuje problem ogonowania pików chromatograficznych

Tabela I. Zestawienie metod oznaczania stężeń meropenemu za pomocą LC-MS/MS
Table I. Summary of methods for determination of meropenem concentrations using LC-MS/MS

Źródło	Próbka	IS	Technika analizy	Aparat/Detekcja	Kolumna	Faza ruchoma	Przejścia jonowe	Liniowość	Przygotowanie próby
[4] Cao i wsp. 2022	osocze	D-MER	HPLC-MS2 i MS3 (LC-20AD HPLC, SKJ)	Q-TRAP 5500 MS (AB2)/ESI+, MRM	Agilent Poroshell 120 SB-C18 (4,6 x 50 mm; 2,7 µm) (ATU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: ACN	384,0-141,0 (MS2); 384,0-298,0-254,2 (MS3) IS: 390,0-147,0 (MS2); 390,0-304,0-260,2 (MS3)	0,5-50 µg/ml	Denaturacja MeOH
[5] Sjöval i wsp. 2018	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (Shimadzu Nexera2 UHPLC, SKJ)	8030+ TQMS (SKJ)/ESI+, MRM	SeQuant ZIC-HILIC (2,1 x 20 mm; 5 µm) + (2,1 x 50 mm; 5,0 µm; 200Å) (Merck KGaAm, Darmstadt, Niemcy)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	383,50-68,15 IS: 390,15-147,0	0,2-100 mg/l	Denaturacja ACN
[6] Krnáč i wsp. 2021	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (EXION AC-System, SKJ)	QTrap 5500+ TQMS (AB5)/ ESI+, MRM	Luna PFP (2,0 x 50,0 mm; 3,0 µm) + prekolumna PFP (4 x 2,0 mm) (PH1)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w miesz. MeOH-ACN (8:2, v/v)	384,1-141,1	0,2-100 mg/l	Denaturacja MeOH-ACN-H2O (6:2:2; v/v/v)
[7] Paal i wsp. 2018	surowica	D-MER	HPLC-MS/MS (2795 Alliance HT HPLC, WMU)	Waters Quattro micro API TQS (WMU)/ESI+, MRM	C8 RP column (2,1 x 100 mm; 3 µm) (Fortis, Cheshire, UK) + prekolumna o filtrze 2 µm (Chromsystems, Gräfeling, Niemcy	gradient A: 10 mM MA w miesz. H2O:FA (99,9:0,1) B: ACN	384,1-141,0 IS: 390,1-147,2	0,25-120 mg/l	Denaturacja MeOH-MTBE (90:10, v/v)
[8] Yang i wsp. 2023	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (-)	ABSciex 4000 TQS (ABSciex Corp., Framingham, MA, USA)/ESI+, MRM	HILIC silica (2,1 x 50 mm; 3 µm) (WMU)	gradient A: 0,1% FA w ACN B: 5 mM MA w miesz. ACN:H2O:FA (95:4,9:0,1)	384,1-141,3	0,5-50 µg/ml	Denaturacja ACN
[9] Martens-Lobenhoffer i wsp. 2017	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (1260 Infinity, Agilent, Waldbronn, Niemcy)	QTRAP 4500MD MS (AB5)/Turbo-Ion-Spray (TSP), MRM	Hypersil GOLD HILIC (2,1 x 100 mm; 3 µm) (TFS1) + SecurityGuard (4 x 2 mm) (PH1)	gradient A: 1 ml MA w 0,1% FA w H2O (pH ok. 3,5) B: ACN	384-254 IS: 390-260	1-50 µg/ml	Denaturacja ACN
[10] Rakete i wsp. 2021	surowica	D-MER	HPLC-MS/MS (Agilent 1290 Infinity I LC system, WMU)	TripleQuad 6500+ MS (AB3)/ESI+, MRM	XSelect HSS PFP column (2,1 x 100 mm; 2,5 µm) + XSelect HSS PFP Van Guard Cartridge (WMU)	gradient A: 10 mM MA w miesz. H2O:FA (99,8:0,2, v/v) B: MeOH	384,2-254,3	1-100 mg/l	Denaturacja MeOH
[11] Köhler i wsp. 2023	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (Agilent 1100 HPLC, ATU)	Waters Micromass Quattro Premier XE TQ (WMU)/ MRM	SeQuant® ZIC®-HILIC (2,1 x 150 mm; 5 µm, 200 Å) (Merck Millipore, Burlington, MA, USA)	gradient A: 1% FA w H2O B: ACN	383,95-68,04 IS: 389,96-68.06	0,1-10 µg/ml	Denaturacja ACN
[12] Huo i wsp. 2023	osocze	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity UHPLC H-Class, WMU)	tandem 5500 QTRAP MS (AB4)/ ESI+, MRM	BEH C18 column (2,1 x 50 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: MeOH B: H2O z 7,71 g/L OA (pH 6,5)	383,17-141,1 IS: 390,2-147,0	1-100 µg/ml	Denaturacja MeOH:ACN (3:1, v/v)
[13] Nowak-Kózka i wsp. 2020	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (Prominence, SKJ)	Qtrap 4000 (AB4)/ ESI+, MRM	Zorbax Eclipse XDB C18 column (1,0 x 50 mm; 3 µm) (ATU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: miesz. ACN-MeOH-FA (50:50:0,1%)	384-141 IS: 390-147	0,05-250 µg/ml	Denaturacja miesz. MTBE-MeOH (4:1, v/v)

[3] Rehm i wsp. 2020	osocze i CSF	D-MER	HPLC-MS/MS (UltiMate 3000 HPLC, TFS1)	TSQ ENDURA TQMS (TFS1)/ESI+, MRM	Hypersil GOLD HILIC column (4,6 x 150 mm; 5 µm) (TFS1)	gradient A: 10 mM OA i 0,1% FA B: ACN:MeOH (1:1, v/v) z 10 mM OA i 0,1% FA	384,2-141,1 IS: 390,2-147,2	1,0-100 mg/l	Ekstrakcja online: Turboflow Cyclone HILIC column (50 x 0,5 mm)
[14] Jiang i wsp. 2024	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (Jasper™ HPLC, AB3)	Triple Quad™ 4500MD MS (AB3)/ ESI+, MRM	Kinetex® EVO RP-C18 column (2,1 x 30 mm; 2,6 µm) (PH2)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,1-141,0	0,5-64 µg/ml	Denaturacja MeOH
[15] He i wsp. 2024	surowica, płyn maziowy	norwankomycyna	UPLC-MS/MS (Acquity UPLC, WMU)	Waters XEVO TQD MS (WMU)/ESI+, MRM	Waters Acquity UPLC BEH C18 column (2,1 x 100 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: ACN	384,16-67,99	0,5-50/ 100 µg/ ml (surowica/ płyn)	Denaturacja ACN i ekstrakcja dichlorometan
[16] Schuster i wsp. 2018	surowica	D-MER	HPLC-MS/MS (2795 Alliance HPLC, WMU)	Quattro micro API TQS (WMU)/ESI+, MRM	Fortis C8-alkyl-chain-length RP HPLC (2,1 x 100 mm; 3 µm) (Fortis, Cheshire, UK)	gradient A: 10 mM MA w miesz. H2O:FA (99,9:0.1, v/v) B: MeOH	384,1-114,0/141,0 IS: 390,1-114,0/147,2	0,5-400 mg/l	Denaturacja MTBE:ACN (10:90; v/v)
[17] Jin i wsp. 2023	surowica, CSF	D-MER	HPLC-MS/MS (-)	Qtrap 5500 MS (AB1)/ Turbolon Spray; ESI+, MRM	Zorbax Eclipse XDB 300SB-C8 (4,6 x 150 mm; 5 µm) (ATU)	gradient A: 0,05% FA w H2O B: 0,05% FA w ACN	384,3-113,9 IS: 390,3-147,3	5-500/ 50-5000 ng/ml (surowica/ CSF)	Denaturacja ACN
[18] Neef i wsp. 2024	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (1290 Infinity UHPLC, ATU2)	6460 TQMS (ATU2)/ ESI+, MRM	Acquity UPLC HSS T3 (2,1 x 100 mm; 1,8 µm) (Waters, Eschborn, Niemcy)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,2-68,1; 141,0 IS: 390,2- 68,2	2,6-100 µg/ml	Denaturacja ACN
[19] Kai i wsp. 2023	osocze/ filtrowane próbki z ciągłej terapii nerkozastępczej	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity HPLC I--Class, WMU)	Xevo TQ-D TQMS (WMU)/ESI+, MRM	Acquity CSH C18 (2,1 x 50 mm; 1,7 µm) + Acquity CSH C18 Van--Guard precolumn (5 x 2,1 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: 0,1% FA i 2 mM MA w miesz. H2O-ACN (98:2, v/v) B: 0,1% FA i 2 mM MA w miesz. H2O-ACN (2:98, v/v)	384,16-140,91 IS: 390,21-147,01	0,1-50 / 0,5-250 µg/ml (osocze/ filtrat)	Denaturacja ACN
[20] Mortensen i wsp. 2019	osocze	D-MER	LC-MS/MS (Shimadzu LC--20AD HPLC, SKJ)	API 4000 TQMS (SCIEX, Foster City, CA)/ESI+, MRM	Luna C18 (2,0 x 50 mm; 5 µm) + C18 guard column (4,0 x 2,0 mm) (PH2)	gradient A: 0,05% FA w H2O B: 90% ACN w H2O	384,5- 339,9 IS: 390,4-345,9	0,5-100 mg/l	Denaturacja ACN
[21] Rao i wsp. 2020	surowica/ surowica filtrowana	cefticzoksym	LC-MS/MS Agilent 6460 TMS (ATU)	Agilent 6460 TMS (ATU)/ESI+, MRM	CORTECS C18 (4,5 x 150 mm; 2,7 µm) (WMU)	gradient A: H2O B: MeOH	384,0-141,0	0,06-60/30 µg/ ml (surowica/filtrowana)	Denaturacja MeOH

[22] Wiesholzer i wsp. 2016	osocze, dializat, mocz	-	HPLC-MS/MS (Ultimate 3000 RSLC, Dionex, Germering, Niemcy)	API 4000 TQMS (AB2)/ ESI+, MRM	Acclaim RSLC 120 C18 (2,1 x 150 mm; 3 µm) + Acclaim 120 C18 guard cartridge (10 x 2 mm; 5 µm) (TFS1)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: ACN	384-141	0,1-10000 ng/ml	Denaturacja MeOH
[23] Berska i wsp. 2024	sztuczna i natywna surowica/ osocze i CSF	D-MER	LC-MS/MS (1260 Infinity II LC Instrument, ATU)	6460 Triple Quad LC-MS/MS (ATU)/ ESI+, MRM	Aquasil C18 column (3,0 x 100 mm; 5 µm) (TFS1)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,16-141,1 IS: 390,2- 147,1	0,1-50 µg/ml	Denaturacja 0,1% FA w ACN
[24] Woksepp i wsp. 2022	surowica	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity UPLC, Waters, Sollentuna, Szwecja)	Xevo TQ MS (Waters, Sollentuna, Szwecja) /ESI+, MRM	Kinetex biphenyl RP (2,1 x 100 mm; 1,7 µm) (Phenomenex, Vaerloese, Dania)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w MeOH	384,15-141,03 IS: 390,15-147,03	1,25-80,0 mg/l	Denaturacja MeOH
[25] Radovanovic i wsp. 2022	osocze	D-MER	LC-MS/MS (Ultra-Fast LC, Shimadzu Oceania, Australia)	Shimadzu-8050 TQMS (Shimadzu Oceania, Rydalmere, NSW, Australia)/ ESI+, MRM	Waters Acquity BEH C18 (2,1 x 50 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,0-68,0; 141,1 IS: 390,0-147,1	0,2-100 mg/l	Denaturacja ACN
[26] Piestansky i wsp. 2022	osocze	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity UPLC, WMU)	Quattro Premier XE TQMS (WMU)/ ESI+, MRM	Corteces UPLC T3 (2,1 x 100 mm; 1,6 µm) + VanGuard precolumn (WMU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,2-141,1/254,3 IS: 390,0-147,0	0,1-100 µg/ml	Denaturacja ACN
[27,28] Nussbaumer-Pröll i wsp. 2019 i 2020	erytrocyty /mocz	D-MER	LC-MS/MS (Symbiosis ALIAS, Spark Holland B.V., Emmen, Holandia)	5500 Qtrap system (Sciex, Framingham, MA, USA)/ TurboIon Source, ESI+, MRM	Kinetex F5 (2,1 x 100 mm; 2,6 µm; 100Å) (PH2)	gradient A: 2 mmol OA w 0,1% FA w H2O (v/v) B: 2 mmol OA w 0,1% FA w MeOH	384,1-340,0 IS: 390,0-346,1	0,05-1,0 mg/l (osocze) 0,05-1,5 mg/l (mocz)	Denaturacja MeOH
[29] Magréault i wsp. 2019	surowica	D-MER	UPLC-MS/MS (Acquity I-Class instrument, WMU)	Xevo-TQD TQ MS (WMU)/ESI+, MRM	Waters Acquity UPLC HSS T3 column (2,1 x 100 mm; 1,8 µm) + VanGuard HSS T3 pre-column (WMU)	gradient A: 5 mM OA (pH 2,4) B: 0,1% FA w ACN	406-163	0,1-50 µg/ml	Denaturacja ACN
[30] Seraissol i wsp. 2022	surowica	D-MER	LC-MS/MS (HPLC, Shimadzu, Marne la Vallée, Francja)	Sciex API 4500 TQMS (ABSCIEX, Villebon-sur-Yvette, Francja)/ ESI+, MRM	Kinetex Polar-C18 (2,1 x 100 mm; 2,6 µm, 100Å) (Phenomenex, Le Pecq, Francja)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	-	0,2-100 mg/l	Denaturacja 0,1% FA w MeOH
[31] Mula i wsp. 2023	osocze	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity H-Class PLUS, WMU2)	Xevo TQ-S micro, (WMU2)/ESI+, MRM	KIT column (CoQua Lab s.r.l, Turyn)	gradient fazy A i B (fazy ruchome z zestawu)	390,2-147,0	2,5-80,0 µg/ml	Denaturacja roztworem ekstrakcyjnym z zestawu
[32] El-Najjar i wsp. 2018	osocze	D-MER	UPLC-MS/MS (Agilent 1200 series LC, CTC)	API 4000 TQ-MS (Applied Biosystems/Sciex, Darmstadt, Niemcy) /ESI+, MRM	Kinetex F5 z TMS endcapping (2,1 x 50 mm; 2,6 µm) (PH1)	gradient A: 2 mmol/l OA i 0,1% FA w H2O B: 2 mmol/l OA i 0,1% FA w MeOH	384,2-254,0 IS: 390,2-346,0	0,1-100 mg/l	Denaturacja MeOH

[33] Chen i wsp. 2017	osocze	D-MER	LC-MS/MS (Agilent 1100 series, CTC)	3000 TQMS (AB1) / Ionics Hot Source Induced Desolvation	Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 (2,1 x 50 mm; 5,0 µm) (ATU1)	gradient A: 25 mM FA w H2O B: 25mM FA w ACN	384,0-141,0	0,206-50 µg/ml	Denaturacja ACN z 25mM FA
[34] Brozmanová i wsp. 2024	surowica, wysięk, ultrafiltat	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity UPLC, WMU)	Quattro Micro API TQ (Micromass, Manchester, UK)/ ESI+, MRM	Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 100 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: 2 mmol/l OA, 0,1% FA w 5% MeOH (v/v/v) B: 2 mmol/l OA, 0,1% FA w 95% MeOH (v/v/v)	383,8-141,1 IS: 390,1-147,2	0,1-200 mg/l surowica 0,1-100 mg/l wysięk 0,1-50 mg/l ultrafilat	Ekstrakcja miesz. MeOH: ACN (3:2, v/v)
[35] Barco i wsp. 2020	osocze	D-MER	LC-MS/MS (ThermoScientific Ultimate 3000 LC, TFS2)	ThermoScientific TSQ Quantiva TQ MS (TFS2)/HESI+, MRM	Thermo Scientific Accucore Polar Premium column (2,1 x 50 mm; 2,6 µm) (TFS2)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,2-141,1 IS: 390,25-147,1	1,0-100,0 mg/l	Denaturacja MeOH
[36] Qi i wsp. 2025	DBS	D-MER	UHPLC-MS/MS (UltiMate 3000 UHPLC, TFS2)	TSQ ENDURA TQ MS (TFS2)/ESI+, MRM	Acquity UPLC BEH C18 (2,1 x 100 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: ACN	384,1-141,1	0,2-20 µg/ml	Denaturacja ACN
[37] 2020	osocze	D-MER	HPLC-MS/MS (LC, CTC; TFS1)	Thermo Fisher Scientific TSQ Quantum Ultra MS (TFS1)/ESI+, MRM	Acquity UPLC HSS-T3 (2,1 x 50 mm; 1,8 µm) (WMU)	gradient A: 10 mM MA w 0,4% FA w H2O B: ACN	384,2- 68,1 IS: 390,7-688,10	0,05-100 µg/ml	Denaturacja MeOH
[38] Forier i wsp. 2018	plwocina	D-MER	LC-MS/MS (Acquity UPLC, WMU)	Waters TQD TQMS (WMU)/ESI+, MRM	Acquity UPLC BEH C18 column (2,1 x 100 mm; 1,7 µm)+ BEH C18 VanGuard (5 x 2,1 mm; 0,2 µm) (WMU)	gradient A: 0,1% FA i 2 mM OA w H2O B: 0,1% FA i 2 mM OA w MeOH	384-141 IS: 390-147	0,4-40,0 mg/l	Denaturacja ACN
[39] Rigo-Bonnin i wsp. 2017	osocze	D-MER	UHPLC-MS/MS (Acquity UPLC, WMU)	Acquity TQD TQMS (WMU)/ESI+, MRM	Acquity UPLC BEH C18 RP (2,1 x 100 mm; 1,7 µm, 130A) + VanGuard pre-column (2,1 x 5 mm; 1,7 µm, 130Å) (WMU)	gradient A: 0,1% FA w H2O B: 0,1% FA w ACN	384,0-141,0 IS: 390,0-147,0	0,5-175 mg/l	Denaturacja ACN
[40] 2022	osocze	D-MER	UPC2-MS/MS (Acquity UPC2--MS/MS, WMU)	Waters TQ-S micro TQMS (WMU)/ESI+	Waters Acquity UPC2 Torus DIOL column (2,1 x 100 mm; 1,7 µm) (WMU)	gradient A: CO2 B: 5% 10 mM MA w 1l MeOH	383,98-68,05 IS: 390,2-68,05	1,4-56,6 mg/l	Denaturacja MeOH

Skróty:
LC MS/MS- chromatografia cieczowa sprzężona ze spektrometrem mas, HPLC- wysokosprawna chromatografia cieczowa, UPLC- ultrasprawna chromatografia cieczowa, UHPLC- ultrawysokosprawna chromatografia cieczowa, UPC^2- chromatografia cieczowa z dwutlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym, Q-TRAP- potrójny kwadrupol z pułapka jonową, TQMS, TQS, TQD- spektrometr masowy z potrójnym kwadrupolem, ESI+- jonizacja w polu elektrycznym w trybie jonów dodatnich, MRM- monitorowanie reakcji wielokrotnych; *SKJ*- Shimadzu, Kioto, Japonia; *ATU*- Agilent Technologies 1: Santa Clara, CA, USA, 2:Waldbronn; *WMU*- Waters Corp. Milford, MA, USA, 2: Milan, Włochy; *TFS*- Thermo Fischer Scientific 1: Waltham, MA, USA, 2: Milan, Włochy; *CTC*- CTC Analysis AG, Zwingen, Szwajcaria; *PH*- Phenomenex 1: Aschaffenburg, Niemcy, 2: Torrance, CA, USA; *AB*- AB SCIEX 1: ON, CA, USA 2: Foster City, USA 3: Framingham, USA 4: Toronto, USA 5: Darmstadt, Niemcy; DBS- sucha kropla krwi, IS- wzorzec wewnętrzny, D-MER– znakowany deuterem meropenem, ACN- acetonitryl, FA- kwas mrówkowy, MeOH- metanol, MA- mrówczan amonu, H_2O- woda, CO_2-dwutlenek węgla, OA- octan amonu, MTBE- eter tert-butylowo-metylowy

[3,5,8,9,11]. Rzadziej stosowanymi kolumnami były Kinetex F5 [27,28,32] oraz kolumna Thermo Scientific Accucore Polar Premium [35]. W wielu analizach wykorzystano również prekolumny odpowiednie do używanej kolumny.

Metoda detekcji

Spektrometria mas

Detekcję prowadzono przy użyciu spektrometru z potrójnym kwadrupolem MS/MS/MS, spektrometrem typu QTRAP (ang. *Quadrupole-Linear Ion Trap* – połączenie potrójnego kwadrupolu z pułapką jonową). Użyto trybu jonów dodatnich oraz funkcji monitorowania reakcji wielokrotnych (MRM). Substancję oznaczaną – meropenem – wzbudzano za pomocą jonizacji elektrorozpylanie w trybie jonów dodatnich (ESI+). Przejścia jonowe meropenemu dla jonów ilościowych i potwierdzających oraz wzorca wewnętrznego przedstawiono w tabeli I.

Zastosowanie metod LC-MS/MS oznaczania stężeń meropenemu

Większość opracowanych metod dotyczyła oznaczania stężeń meropenemu w osoczu ludzkim [3-6,8,9,11-14,18-20,22,23,25,26,31-33,35,37,39,40] lub surowicy krwi [7,10,15-17,21,23,24,29,30,34]. Są to najczęściej stosowane matryce biologiczne wykorzystywane w procesie terapeutycznego monitorowania leków. Antybiotyk ten można również oznaczać w innych matrycach, takich jak mocz [22,27,28], płyn mózgowo-rdzeniowy [3,17,23], dializat [19,22], płyn maziowy [15], erytrocyty [27,28], wysięk i ultrafiltrat [34], sucha kropla krwi (ang. *dried blood spot*, DBS) [36] czy plwocina [38].

Wielu badaczy skupiło się również na opracowaniu metody LC MS/MS oznaczania stężenia meropenemu w matrycy biologicznej jednocześnie z innymi antybiotykami podawanymi w trakcie terapii pacjenta [3,6,7,11,12,14-21,23-27,29-39].

Ze względu na niestabilność meropenemu, Rakete i wsp. [10], oprócz oznaczania stężenia antybiotyku, postanowili zbadać również główny produkt jego degradacji. Analizie został poddany metabolit o otwartym pierścieniu β-laktamowym (ORM), który jest nieaktywny farmakologicznie. Opracowana przez badaczy metoda LC-MS/MS oznaczania tego związku umożliwia uwzględnienie w praktyce klinicznej występowania zwiększonego poziomu ORM, a tym samym mniejszego stężenia aktywnego leku oraz może być wykorzystana w przyszłości podczas badań stabilności roztworów meropenemu.

Czułość zwalidowanych metod analitycznych LC-MS/MS (tabela I) zapewnia wiarygodne wyniki oznaczeń meropenemu, a szybkie i proste przygotowanie próbki skraca znacząco czas analizy. Dlatego też metoda LC MS/MS doskonale nadaje się wykorzystania w zindywidualizowanej terapii monitorowania stężenia leku w matrycy biologicznej pacjenta (TDM), jednakże z uwagi na koszt aparatury oraz wysoko specjalistyczne doświadczenie analityczne nie jest ona jeszcze powszechnie dostępna.

Podsumowanie

Meropenem jako antybiotyk o szerokim spektrum działania jest niezbędny w przypadku leczenia ciężkich zakażeń szpitalnych. Ze względu na rosnącą oporność na antybiotyki oraz działania niepożądane związane z terapią zalecana jest terapia monitorowana stężeniem leku (TDM). Powyższe zestawienie umożliwia szybki wybór odpowiedniej metody, a także przedstawia możliwości oznaczania stężenia meropenemu w innych, niż osocze i surowica krwi, matrycach biologicznych.

Konflikt interesów / Conflict of interest
Brak/None

Adres do korespondencji / Correspondence address
Hanna Urjasz
Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu
ul. Rokietnicka 3, 60-806 Poznań
(+48 61) 641 83 59
hana@ump.edu.pl

Piśmiennictwo/References

1. Steffens NA, Zimmermann ES, Nichelle SM, Brucker N. Meropenem use and therapeutic drug monitoring in clinical practice: a literature review. J Clin Pharm Ther 2021; 46(3):610-621..
2. Zou L, Meng F, Hu L, et al. A novel reversed-phase high-performance liquid chromatographic assay for the simultaneous determination of imipenem and meropenem in human plasma and its application in TDM. J Pharm Biomed Anal 2019; 169:142-150.

3. Rehm S, Rentsch KM: HILIC LC-MS/MS method for the quantification of cefepime, imipenem and meropenem. J Pharm Biomed Anal 2020; 186:113289.
4. Cao H, Yin L, Cao H, et al. A sensitive and selective HPLC-MS3 method for therapeutic drug monitoring of meropenem and its validation by comparison with HPLC-MS2 methods. J Sep Sci 2022; 45:1683-1692.
5. Sjovall F, Alobaid AS, Wallis SC, et al. Maximally effective dosing regimens of meropenem in patients with septic shock. J Antimicrob Chemother 2018; 73:191-198.
6. Krnáč D, Reiffová K, Rolinski B.: A new HPLC-MS/MS analytical method for quantification of tazobactam, piperacillin, and meropenem in human plasma. J Sep Sci 2021; 44:2744-2753.
7. Paal M, Zoller M, Schuster C, et al. Simultaneous quantification of cefepime, meropenem, ciprofloxacin, moxifloxacin, linezolid and piperacillin in human serum using an isotope-dilution HPLC-MS/MS method. J Pharm Biomed Anal 2018; 152:102-10.
8. Yang P, Zhang X, Zhou C, et al. Determination of free and total meropenem levels in human plasma and its application for the consistency evaluation of generic drugs. Rapid Commun Mass Spectrom 2023; 37(5):e9460..
9. Martens-Lobenhoffer J, Bode-Böger Sm.: Quantification of meropenem in human plasma by HILIC – tandem mass spectrometry. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 2017; 1046: 13-17.
10. Rakete S, Schuster C, Paal M, Vogeser M: An isotope-dilution LC-MS/MS method for the simultaneous quantification of meropenem and its open-ring metabolite in serum. J Pharm Biomed Anal 2021; 197:113944.
11. Köhler N, Karaköse H, Grobbel HP, et al. A Single-Run HPLC-MS Multiplex Assay for Therapeutic Drug Monitoring of Relevant First- and Second-Line Antibiotics in the Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis. Pharmaceutics 2023; 15(11):2543.
12. Huo J, Guo Y, Zhang B, et al. A UHPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of vancomycin, norvancomycin, meropenem, and moxalactam in human plasma and its clinical application. J Mass Spectrom 2023; 58(6):e4925.
13. Nowak-Kózka I, Polok KJ, Górka J, et al. Concentration of meropenem in patients with sepsis and acute kidney injury before and after initiation of continuous renal replacement therapy: a prospective observational trial. Pharmacol Rep. 2020; 72(1):147-155.
14. Jiang X, Qin Y, Lei R, et al. A rapid and simple HPLC-MS/MS method for the therapeutic drug monitoring of six special-grade antimicrobials in pediatric patients. Heliyon 2024; 10(1):e24198.
15. He J, Wang J, Cao L, et al. Determination of vancomycin and meropenem in serum and synovial fluid of patients with prosthetic joint infections using UPLC-MS/MS. J Mass Spectrom 2024; 59(6):e5041.
16. Schuster C, Sterz S, Teupser D, et al. Multiplex Therapeutic Drug Monitoring by Isotope-dilution HPLC-MS/MS of Antibiotics in Critical Illnesses. J Vis Exp. 2018; (138):58148.
17. Jin Y, Sun Q, Pei Y, Huang J: A High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Method for Simultaneous Determination of Vancomycin, Meropenem, and Valproate in Patients with Post-Craniotomy Infection. Molecules 2023; 28(6):2439.
18. Neef SK, Hinderer AD, Arbash W i wsp.: A high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry assay for therapeutic drug monitoring of 10 drug compounds commonly used for antimicrobial therapy in plasma and serum of critically ill patients: Method optimization, validation, cross-validation and clinical application. Clin Chim Acta 2024; 559:119690.
19. Kai M, Tanaka R, Suzuki Y, et al. UHPLC-MS/MS method for simultaneous quantification of doripenem, meropenem, ciprofloxacin, levofloxacin, pazufloxacin, linezolid, and tedizolid in filtrate during continuous renal replacement therapy. J Clin Lab Anal 2023; 37(1):e24815.
20. Mortensen JS, Jensen BP, Zhang M, Doogue M: Preanalytical Stability of Piperacillin, Tazobactam, Meropenem, and Ceftazidime in Plasma and Whole Blood Using Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. Ther Drug Monit 2019; 41(4):538-543.
21. Rao Z, Dang ZL, Li B: Determination of Total and Unbound Meropenem, Imipenem/Cilastatin, and Cefoperazone/Sulbactam in Human Plasma: Application for Therapeutic Drug Monitoring in Critically Ill Patients. Ther Drug Monit 2020; 42(4):578-587.
22. Wiesholzer M, Pichler P, Reznicek G, et al. An Open, Randomized, Single-Center, Crossover Pharmacokinetic Study of Meropenem after Intraperitoneal and Intravenous Administration in Patients Receiving Automated Peritoneal Dialysis. Antimicrob Agents Chemother 2016; 60(5):2790-2797.
23. Berska J, Bugajska J, Sztefko K: A Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Simultaneously Determining Meropenem and Linezolid in Blood and Cerebrospinal Fluid. Ann Lab Med 2024; 44(2):174-178.
24. Woksepp H, Karlsson L, Ärlemalm A, et al. Simultaneous Measurement of 11 Antibiotics for Use in the Intensive Care Unit by Ultra-High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry. Ther Drug Monit 2022; 44(2):308-318.
25. Radovanovic M, Day RO, Jones GDR, et al. LC-MS/MS method for simultaneous quantification of ten antibiotics in human plasma for routine therapeutic drug monitoring. J Mass Spectrom Adv Clin Lab 2022; 26:48-59.
26. Piestansky J, Cizmarova I, Mikus P, et al. An Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method for Simultaneous Determination of 4 β-Lactam Antibiotics, Tazobactam, and Linezolid in Human Plasma Samples. Ther Drug Monit. 2022; 44(6):784-790.
27. Nussbaumer-Pröll AK, Knotzer S, Eberl S, et al. Impact of erythrocytes on bacterial growth and antimicrobial activity of selected antibiotics. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2019; 38(3):485-495.
28. Nussbaumer-Pröll AK, Eberl S, Reiter B, et al. Low pH reduces the activity of ceftolozane/tazobactam in human urine, but confirms current breakpoints for urinary tract infections. J Antimicrob Chemother 2020; 75(3):593-609.

29. Magréault S, Leroux S, Touati J, et al. UPLC/MS/MS assay for the simultaneous determination of seven antibiotics in human serum-Application to pediatric studies. J Pharm Biomed Anal 2019; 174:256-262.
30. Seraissol P, Lanot T, Baklouti S, et al. Evaluation of 4 quantification methods for monitoring 16 antibiotics and 1 beta-lactamase inhibitor in human serum by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection. J Pharm Biomed Anal 2022; 219:114900.
31. Mula J, Chiara F, Manca A, et al. Analytical validation of a novel UHPLC-MS/MS method for 19 antibiotics quantification in plasma: Implementation in a LC-MS/MS Kit. Biomed Pharmacother 2023; 163:114790.
32. El-Najjar N, Hösl J, Holzmann T, et al. UPLC-MS/MS method for therapeutic drug monitoring of 10 antibiotics used in intensive care units. Drug Test Anal 2018; 10(3):584-591.
33. Chen F, Hu ZY, Laizure SC, Hudson JQ: Simultaneous assay of multiple antibiotics in human plasma by LC-MS/MS: importance of optimizing formic acid concentration. Bioanalysis 2017; 9(5):469-483.
34. Brozmanová H, Šištík P, Ďuricová J, et al. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry methods for quantification of total and free antibiotic concentrations in serum and exudate from patients with post-sternotomy deep sternal wound infection receiving negative pressure wound therapy. Clin Chim Acta 2024; 554:117704.
35. Barco S, Mesini A, Barbagallo L, et al. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry platform for the routine therapeutic drug monitoring of 14 antibiotics: Application to critically ill pediatric patients. J Pharm Biomed Anal 2020; 186:113273.
36. Qi Z, Zhang S, Li J, et al. LC-MS/MS analysis of five antibiotics in dried blood spots for therapeutic drug monitoring of ICU patients. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2025; 1263:124699.
37. Decosterd LA, Mercier T, Ternon B, et al. Validation and clinical application of a multiplex high performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry assay for the monitoring of plasma concentrations of 12 antibiotics in patients with severe bacterial infections. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2020; 1157:122160.
38. Forier K, Van Heck V, Carlier M, et al. Development and validation of an LC tandem MS assay for the quantification of β-lactam antibiotics in the sputum of cystic fibrosis patients. J Antimicrob Chemother 2018; 73(1):95-101.
39. Rigo-Bonnin R, Ribera A, Arbiol-Roca A, et al. Development and validation of a measurement procedure based on ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry for simultaneous measurement of β-lactam antibiotic concentration in human plasma. Clin Chim Acta 2017; 468:215-224.
40. Bahmany S, Abdulla A, Ewoldt TMJ, et al. High-throughput analysis for the simultaneous quantification of nine beta-lactam antibiotics in human plasma by UPC2-MS/MS: Method development, validation, and clinical application. J Pharm Biomed Anal 2022; 219:114904.