

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA EL MONITOREO
TERAPEUTICO DE ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS DESCRITOS EN LA
LITERATURA PARA LA ELABORACION DE GUÍAS CLÍNICAS Y SU
IMPLEMENTACIÓN EN EL SISTEMA HOSPITALARIO COSTARRICENSE

Trabajo Final de Graduación sometido a la consideración de la Comisión del Programa de
Estudios de Posgrado en Especialidades en Microbiología para optar al grado y título de
Especialista en Bacteriología Médica

SUSTENTANTE:
ANA FERNANDA VÁSQUEZ MENDOZA, B17029

Ciudad universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica
2021

Dedicatoria

Para Matry y Veco, por demostrar su amor y orgullo de forma incondicional.

Para mi abuelita Carmen, quien sigue presente en nuestros corazones

Agradecimientos

Agradezco a mi familia, mi mamá, mi papá y Raquel por su apoyo y acompañamiento en cada momento y cada decisión.

A quienes aportaron sus ideas para iniciar y finalizar este proyecto con éxito, José Pablo, Norman, Cristina y Diego.

A Pao, por estar siempre.

Y a todos quienes me han motivado a continuar avanzando.

Gracias

“Este Trabajo Final de Graduación fue aceptado por la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en Especialidades en Microbiología de la Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar por el grado y título de Especialista en Bacteriología Médica”

Dr. Norman Rojas Campos

Tutor

Dr. Diego Elizondo Wallace

Lector

Dra. Cristina García Marín

Lectora

Ana Fernanda Vásquez Mendoza

Sustentante

Tabla de contenidos

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Resumen	vii
Summary	viii
Lista de Cuadros	ix
Lista de Abreviaturas	x
Introducción	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1. Poblaciones hospitalizadas que requieren terapia antibiótica por causa infecciosa	1
1.1.2. Uso de antibióticos	5
1.1.3. Betalactámicos	7
1.1.4. Complicaciones asociadas al uso de antibióticos en pacientes hospitalizados	11
1.1.5. Monitorización terapéutica	17
1.2. Justificación	20
1.4. Objetivos	22
1.4.1. Objetivo General	22
1.4.2. Objetivos Específicos	22
1.5. Hipótesis	23
Marco Metodológico	24
2.1. Tipo y diseño de investigación	24
2.3. Sistema de variables	25
Desarrollo	26
3.1. Factores bacterianos, farmacológicos y fisiopatológicos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.	26
3.1.1 Factores bacterianos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.	26

3.1.2 Factores farmacológicos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.....	30
3.1.3 Factores fisiopatológicos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.....	33
3.2 Beneficios asociados a la monitorización terapéutica de los betalactámicos en la optimización de la respuesta farmacoterapéutica.....	43
3.3.1 Pacientes con sepsis.....	43
3.3.2 Pacientes con terapia de remplazo renal o hemodiálisis (CRRT).....	44
3.3.3 Pacientes con Oxigenación extracorpórea por membrana (ECMO).....	44
3.3.4 Pacientes con Aclaramiento Renal aumentado (ARC).....	45
3.3.5 Pacientes quemados.....	45
3.3.6 Pacientes obesos.....	46
3.3.7 Pacientes neonatos.....	47
3.3.8 Pacientes hospitalizados.....	47
3.3.9 Pacientes ambulatorios.....	49
3.3.10 Bacterias multirresistentes (MDR).....	49
3.3 Metodologías utilizadas internacionalmente para realizar la monitorización terapéutica de los betalactámicos.....	53
3.3.1 Cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC).....	53
3.3.2 Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS).....	55
3.3.3 Otras metodologías.....	56
4.1. Conclusiones.....	68
4.2. Limitaciones.....	69
4.3. Recomendaciones.....	70
Referencias bibliográficas.....	71

Resumen

Recomendaciones internacionales promueven la monitorización terapéutica de antibióticos betalactámicos. Estas recomendaciones se fundamentan en los efectos adversos de las dosis subterapéuticas o tóxicas. Sin embargo, no existen metodologías comerciales disponibles, y hasta 2015 no existían suficientes estudios clínicos que demostraran beneficios significativos de esta práctica.

Esta investigación pretende ser una herramienta que provea un fundamento teórico y práctico para la implementación de la monitorización terapéutica de los betalactámicos en el sistema de salud de Costa Rica, incluyendo un análisis de las poblaciones mayormente beneficiadas por esta práctica y el método más adecuado para la realidad costarricense-

Summary

International recommendations promote the therapeutic monitoring of betalactams antibiotics. These recommendations are based in the adverse effects of subtherapeutic or toxic dosage. However, there are not available commercial methodologies and, until 2015, there were not enough clinical studies that demonstrated significative benefits from this practice.

This investigation intends to be a tool that provides a theoretical and practical foundation for the implementation of the therapeutic monitoring of betalactams antibiotics within the health system of Costa Rica, including an analysis of the most benefited populations by this practice and the most accurate method for Costa Rican reality.

Lista de Cuadros

	Pág.
Cuadro 1. Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los betalactámicos ..	30
Cuadro 2. Índices farmacodinámicos de los antibióticos	31
Cuadro 3. Alteraciones fisiológicas que afectan la farmacocinética de los betalactámicos	35
Cuadro 4. Poblaciones de pacientes con alteraciones fisiológicas y terapéuticas que afectan la farmacocinética de los betalactámicos	42
Cuadro 5. Comparación resultados obtenidos en estudios que evaluaron los aportes de la TDM de betalactámicos en distintas poblaciones de pacientes.	50
Cuadro 6. Comparación de metodologías analíticas validadas para la determinación de betalactámicos en sangre	63
Cuadro 7. Comparación métodos analíticos LC-MS/MS versus HPLC para la determinación de betalactámicos.....	67

Lista de Abreviaturas

ARC: Aclaramiento renal aumentado
AUC: Área bajo la curva
BBC: Concentración bactericida de biopelícula
BPC: Concentración de prevención de biopelícula
Cl: Aclaramiento
Clcr: Aclaramiento renal
CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
CRRT: Terapia continua de remplazo renal
DDD: Dosis diarias definida
ECMO: Oxigenación Extracorpórea por membrana
EMA: European Medicines Agency Committee
FDA: Food and Drug Administration
HILIC- UPLC: Cromatografía líquida ultra rápida de interacción hidrofílica
HPLC: Cromatografía líquida de alto desempeño
IAAS: Infección asociada a la atención de salud
IDSA: Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas
LC: Cromatografía líquida
LLE: Extracción líquida-líquida
MBEC: Concentración mínima de erradicación de la biopelícula
MBIC: Concentración mínima inhibidora de la biopelícula
MDK: Duración Mínima para Matar
MDR: Multi-drogo resistente
MIC: Concentración mínima inhibitoria
MS: Espectrometría de masas
OMS: Organización Mundial de la Salud
PD: Farmacodinamia
PK: Farmacocinética
PROA: Programas de optimización de antimicrobianos
PSA: Prueba de sensibilidad a antibióticos
RP: Fase reversa
SIR: Radio estandarizado de infecciones
SPE: Extracción de fase sólida
TDM: Monitoreo terapéutico de drogas
UCI: Unidad de cuidados intensivos
UV: Ultravioleta
Vd: Volumen de distribución



Autorización para digitalización y comunicación pública de Trabajos Finales de Graduación del Sistema de Estudios de Posgrado en el Repositorio Institucional de la Universidad de Costa Rica.

Yo, Ana Fernanda Vásquez Mendoza, con cédula de identidad 1 1549 0573, en mi condición de autor del TFG titulado EVALUACIÓN DE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA EL MONITOREO TERAPEUTICO DE ANTIBIÓTICOS BETALACTÁMICOS DESCRITOS EN LA LITERATURA PARA LA ELABORACION DE GUÍAS CLÍNICAS Y SU IMPLEMENTACIÓN EN EL SISTEMA HOSPITALARIO COSTARRICENSE

Autorizo a la Universidad de Costa Rica para digitalizar y hacer divulgación pública de forma gratuita de dicho TFG a través del Repositorio Institucional u otro medio electrónico, para ser puesto a disposición del público según lo que establezca el Sistema de Estudios de Posgrado. SI NO *

*En caso de la negativa favor indicar el tiempo de restricción: _____ año (s).

Este Trabajo Final de Graduación será publicado en formato PDF, o en el formato que en el momento se establezca, de tal forma que el acceso al mismo sea libre, con el fin de permitir la consulta e impresión, pero no su modificación.

Manifiesto que mi Trabajo Final de Graduación fue debidamente subido al sistema digital Kerwá y su contenido corresponde al documento original que sirvió para la obtención de mi título, y que su información no infringe ni violenta ningún derecho a terceros. El TFG además cuenta con el visto bueno de mi Director (a) de Tesis o Tutor (a) y cumplió con lo establecido en la revisión del Formato por parte del Sistema de Estudios de Posgrado.

INFORMACIÓN DEL ESTUDIANTE:


Nombre Completo: Ana Fernanda Vásquez Mendoza

Número de Carné: B17029 Número de cédula: 1 1549 0573

Correo Electrónico: af.vasquezmendoza@gmail.com

Fecha: 09 diciembre 2021 Número de teléfono: 8621 2577

Nombre del Director (a) de Tesis o Tutor (a): Norman Rojas Campos

ANA FERNANDA
VASQUEZ
MENDOZA (FIRMA)  Firmado digitalmente por
ANA FERNANDA VASQUEZ
MENDOZA (FIRMA)
Fecha: 2021.12.09 19:15:11
-06'00'

FIRMA ESTUDIANTE

Nota: El presente documento constituye una declaración jurada, cuyos alcances aseguran a la Universidad, que su contenido sea tomado como cierto. Su importancia radica en que permite abreviar procedimientos administrativos, y al mismo tiempo genera una responsabilidad legal para que quien declare contrario a la verdad de lo que manifiesta, puede como consecuencia, enfrentar un proceso penal por delito de perjurio, tipificado en el artículo 318 de nuestro Código Penal. Lo anterior implica que el estudiante se vea forzado a realizar su mayor esfuerzo para que no sólo incluya información veraz en la Licencia de Publicación, sino que también realice diligentemente la gestión de subir el documento correcto en la plataforma digital Kerwá.

Introducción

1.1. Antecedentes

1.1.1. Poblaciones hospitalizadas que requieren terapia antibiótica por causa infecciosa

Pacientes que adquieren una infección asociada a la atención de la salud.

Durante un internamiento hospitalario, los efectos adversos más comunes para los pacientes suelen ser: las complicaciones quirúrgicas, los efectos secundarios de los medicamentos y las infecciones asociadas a la atención de la salud (IAAS) antes conocidas como infecciones nosocomiales. Lo anterior tiene implicaciones en la morbilidad y mortalidad, así como un aumento en los días de estadía y los costos económicos. En un estudio realizado en 2007 en Estados Unidos, se estimó que el costo anual de las IAAS rondaba entre los 28.4 y 45 millones de dólares (Scott, 2009) y en un estudio multicéntrico internacional en 2009, se encontró que los pacientes hospitalizados infectados tenían una tasa de mortalidad del doble (33%) en contraste con los no infectados (15%) (Vincent *et al*, 2009).

La adquisición de una infección asociada de la atención de la salud ocurre después de las primeras 48 horas de internamiento, ya sea en un hospital de atención aguda o en una facilidad de cuidado, clínicas de medicina familiar, cuidado en casa o atención ambulatoria (Reveles, 2012). Este tipo de infecciones ocurre en su mayoría por bacilos Gram negativos, se han asociado históricamente al uso de dispositivos médicos y en general se ha encontrado que los reservorios para este tipo de bacterias son los desechos hospitalarios especialmente los quirúrgicos, donde hasta 20-25% de estos desechos tienen potencial de causar IAAS (Ahmed *et al*, 2017).

Existe una diferencia significativa en los reportes estadísticos de pacientes con IAAS alrededor del mundo, en donde se ha encontrado una asociación inversamente proporcional entre el ingreso per cápita de un país y el porcentaje de pacientes hospitalizados infectados.

En los países de altos ingresos, un 7% aproximadamente de los pacientes adquieren una infección durante el internamiento, mientras que en los países de bajos ingresos, esos porcentajes se encuentran alrededor del 10% (Danasekaran *et al*, 2014).

En un metaanálisis llevado a cabo en 11 países del sureste asiático se reveló una prevalencia del 9.1 %, siendo *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella* sp y *Acinetobacter baumannii* los microorganismos más frecuentes (Ling *et al*, 2015). En un estudio realizado en seis hospitales de la Unión Europea, se reportó más de 2.6 millones de pacientes por año diagnosticados con IAAS, revelando que uno de cada 20 pacientes adquiriría una infección prevenible (Plachouras *et al*, 2016). En África, un estudio realizado en 2011 con información desde 1995 hasta 2009, encontró una prevalencia para IAAS entre 2.5 y 14.8 %, las mismas con una etiología dada en su mayoría por bacilos Gram negativos (Bagheri, *et al*, 2011).

En un estudio multicéntrico realizado en 184 hospitales de Estados Unidos, se encontró que el 4% de los pacientes tenían algún tipo de IAAS, de estas un 25.6 % asociadas al uso de dispositivos, por ejemplo; bacteriemia asociada a catéter de vía central, infección urinaria asociada a catéter y neumonía asociada a ventilador, por otro lado un 21,8 % correspondiente a neumonía no asociada a ventilador, un 21,8% infección de sitio quirúrgico y finalmente un 17.1 % de tipo gastrointestinal causadas en mayoría por *Clostridioides difficile* (Shelley, 2014), siendo este último responsable de aproximadamente 14 000 muertes por año (CDC, 2013).

Como acción correctiva y preventiva a la gran cantidad de infecciones reportadas, se han mejorado en muchos sistemas de salud las prácticas de higiene para evitar las IAAS, con el objetivo de preservar la seguridad de los pacientes. Y estas acciones han demostrado ser eficientes, al comparar el ratio estandarizado de infecciones (SIR) a través del tiempo, se ha descrito una tendencia al descenso desde 2008 hasta 2012 en Estados Unidos, aproximadamente descendió un 14.1 % para las infecciones asociadas a catéter de línea central; en el caso de las infecciones de tracto urinario, descendió un 6% hasta 2011, pues en 2012 aumentó 0.8% particularmente en unidades de terapia intensiva; finalmente en el caso de infecciones de herida quirúrgica las infecciones disminuyeron un 5.8 % por año (Johnson

et al. 2014). En el mismo estudio de Johnson y colaboradores, se determinó que las infecciones por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, disminuyeron en ese mismo periodo de tiempo un 8,7% y en contraste, las infecciones por *C difficile*, se mantienen en tasas constantes con una reducción poco significativa del 2%.

Pacientes críticamente enfermos

Los pacientes críticamente enfermos, son aquellas personas que viven un proceso multisistémico potencialmente mortal, precedido en su mayoría de un periodo de deterioro fisiológico y que resulta en una morbilidad y mortalidad muy significativa. Para evaluar a estos pacientes se debe seguir el formato ABCDE (por sus siglas en inglés) que incluye: vía aérea, respiración, circulación, discapacidad y exposición; con el fin de recibir un manejo apropiado que corrija todas estas complicaciones que pongan en peligro su vida, y generalmente ocurre dentro de una unidad de cuidados intensivos (Robertson, L & Al-Haddad, M, 2013). En estos pacientes las infecciones asociadas a la atención de la salud son comunes, principalmente por bacterias con altos niveles de resistencia y algunos hongos oportunistas. La respuesta en general obedece a la severidad de la enfermedad del paciente, donde las consecuencias de estas infecciones se traducen en el doble de mortalidad y un 40 % de los costos económicos totales del internamiento (Martin & Yost, 2011).

En un metaanálisis realizado en 2007, con 75 países participantes, 1265 unidades de cuidado intensivo y 13 796 pacientes; se encontró que el 51% de ellos tuvo una infección, pero un 71% recibió antibióticos. De todas las infecciones un 64% fue clasificado como de origen respiratorio, 20% abdominales, 15% de sistema circulatorio y 14% de tracto genitourinario; conjuntamente del total de las infecciones un 63% tenía una etiología dada por Gram negativos, un 47% Gram positivos y un 19% por hongos. Se encontró también, que largas estadías en la UCI significaban un mayor riesgo de infección especialmente para *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Candida*; y que los pacientes infectados de este servicio tenían una tasa de mortalidad del doble (25%) que los no infectados (11%) (Vincent *et al.*, 2009).

Pacientes que requieren hospitalización por infección adquirida en la comunidad

Cada día, miles de personas adquieren una infección en la comunidad, y una gran cantidad visitan un servicio de urgencia requiriendo internamiento, por ejemplo, un 46.5 % de los pacientes con neumonía comunitaria deben ser internados (Kolditz, *et al*, 2016). En Estados Unidos, la tasa de infecciones que requirieron hospitalización en 2006 fue de 162.2 por cada 10 000 personas, en su mayoría pacientes adultos mayores y de origen hispanico. En el periodo de 1998 a 2006, estas infecciones significaron 4.5 millones de días de hospitalización por año, \$865 billones para el sistema de salud, y una de las causas más importantes de mortalidad, pues 4.1 % de los hombres, 3.8% de las mujeres y 8.9 % de los adultos mayores fallecieron por esta causa (Yorita, K, *et al* 2009).

Dentro de la lista de infecciones más comunes adquiridas en la comunidad, las de tracto respiratorio inferior son las más frecuentes (34.4 %), seguido de infecciones de riñón, tracto urinario y vejiga (10.3 %), celulitis (10.1%), septicemia (9%), abdominal y de recto (7%), entéricas (4%) y tracto respiratorio superior (3%) (Yorita, K, *et al* 2009).

Finalmente, todos estos pacientes que adquieren una infección en la comunidad y que requieren internamiento, aunado a la gran cantidad de pacientes que adquieren una IAAS, particularmente la población de pacientes críticamente enfermos que posee una altísima susceptibilidad a ser infectados, inciden de forma negativa en los sistemas de salud, con implicaciones económicas y aumentos significativos en la morbilidad y la mortalidad que, sumado a la necesidad de resolver la condición de enfermedad de los pacientes hospitalizados, hacen inevitable el uso de antibióticos.

1.1.2. Uso de antibióticos

Los antibióticos, son por definición sustancias producidas por microorganismos que actúan contra otros microorganismos; sin embargo, en la actualidad existen variantes sintéticas o semisintéticas. Existen múltiples clases de antibióticos que actúan en distintos blancos: la pared o membrana bacteriana, la maquinaria de síntesis de ADN, ARN o de proteínas; y actúan alterando el proceso o las estructuras celulares, causando la muerte de la bacteria, es decir con efecto bactericida o alternativamente deteniendo el crecimiento de la población bacteriana llamado efecto bacteriostático (Nathwani, 2018).

Cuando se tiene alta sospecha de una infección bacteriana se deben dar antibióticos para tratarla y administrar inicialmente una cobertura antimicrobiana adecuada, esto es uno de los factores más importantes que determinan el pronóstico del paciente y evitan la resistencia. Cuando se poseen los resultados de la identificación y sensibilidad de un aislamiento bacteriano debe realizarse el escalamiento o desescalamiento, si el perfil de susceptibilidad lo permite, es decir, cambiar de uno o varios antimicrobianos de alto espectro a la monoterapia con un antibiótico de menor espectro, específico para el microorganismo identificado (Ellis, P. 2010).

Actualmente, se consumen una gran cantidad de antibióticos en todo el mundo, en muchos casos de forma indiscriminada, pues hasta un 30% - 50% de los antibióticos usados en los hospitales son innecesarios o inapropiados (Hecket MT, *et al*, 2003); y por ello es importante monitorear cuáles y cuántos antibióticos se administran en un centro de salud; por ello el consumo suele medirse según los estándares de la OMS, en dosis diarias definidas (DDDs) por 100 días de estadía de los pacientes, lo cual facilita comparaciones temporales en una unidad o diferentes centros asistenciales, y además permite evaluar el impacto de variaciones por cambios en los patrones de uso, por ejemplo las dosis de carga (API, 2016).

Un estudio de la OMS comparó el consumo de antibióticos para 65 países del mundo desde 2016 hasta 2018. Para la región de América el consumo en DDD/1000 habitantes por día, varió desde 10.3 para Perú hasta 22.8 para Brasil, ubicando a Costa Rica ligeramente por debajo de la mediana pues reportó un 14.18. Para los países de América, del total de

antibióticos, la familia con mayor consumo son las penicilinas y betalactámicos con más de un 50%; donde más de un 90% son administrados oralmente, siendo amoxicilina (29%) el más consumido seguido por la azitromicina (11%), y para el resto, administrado parenteralmente, ceftriaxona es el más utilizado (13%) (OMS, 2018).

Para Costa Rica, las penicilinas fueron las más consumidas (26.8 %), seguidas de otros betalactámicos (18.0%), macrólidos, lincosamidas y estreptograminas (12.3), tetraciclinas (12.2%), sulfonamidas y trimetoprima (11.6%), quinolonas, (2.4%), aminoglucósidos (0.9%) y otros (15.7%) (OMS, 2018). Las variaciones en el consumo para cada antibiótico son multifactoriales, dependen del tipo de centro de salud, ya sea un hospital especializado o una clínica de atención primaria, pues de esto dependen los antibióticos disponibles en la farmacia según la Lista Oficial de Medicamentos del país, las restricciones existentes para los profesionales que prescriben y los porcentajes de resistencia; así el consumo varía incluso entre los servicios del hospital, por ejemplo, las Unidades de Cuidado intensivo suelen tener consumos más elevados (Meyer E, 2006).

Debido al uso exacerbado de los antibióticos, desde 2007 la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) publicó una guía para incentivar el desarrollo institucional de programas de optimización de antimicrobianos (PROA) con el fin de disminuir este uso inapropiado, optimizar la selección de antimicrobianos, la dosificación, la ruta y duración de la terapia, con el fin de maximizar la cura o prevención de la infección, minimizar los efectos adversos y la aparición de patógenos resistentes (Dellit TH, *et al*, 2007). Actualmente muchos estudios han demostrado que por medio de intervenciones de los PROA, es posible reducir el consumo total de antibióticos de un hasta un 38 % de DDD/1000 días paciente, con una reducción en el costo económico, menor duración de tratamientos y menor cantidad de efectos adversos, mejorando el resultado clínico de los pacientes y disminuyendo los porcentajes de resistencia a antibióticos locales; lo anterior se ha logrado sin provocar un aumento en los casos de infecciones asociadas a la salud ni en las tasas de mortalidad (Kaki, *et al*, 2011).

1.1.3. Betalactámicos

Los betalactámicos son una clase de antibióticos de amplio espectro, utilizados principalmente para el tratamiento de infecciones con etiología dada por bacilos Gram negativos (CDC, 2013). Son estas drogas, las más populares y antiguas en la historia de la medicina: El primer antibiótico probado en ensayos clínicos perteneció a esta clase: la Penicilina; dichos ensayos ocurrieron en 1941, y fueron dirigidos por Florey, quien utilizó extractos de penicilina, previamente caracterizados, obtenidos a partir de los cultivos de *Penicillium chrysogenum* de Alexander Fleming (Florey, *et al.* 1949).

Fue tal el éxito del uso de la Penicilina G para tratar infecciones que rápidamente se inició el desarrollo de nuevas drogas, con mejor actividad y mayor biodisponibilidad oral. En un primer inicio surgen derivados estables a las penicilinasas, la Penicilina V y además nuevos compuestos: la penicilina N y la cefalosporina C, esta última con muy baja actividad, pero resistente a penicilinasas. Surgen también las penicilinas semisintéticas producidas en caldos de fermentación con posteriores derivaciones químicas, como acilaciones para producir ácido 6-β-amino-penicilánico (6-APA) (Nayler, 1991). De este último compuesto, se originan una serie de penicilinas derivadas de aminoácidos, la ampicilina y amoxicilina, que se convertirían en las más penicilinas semisintéticas orales más ampliamente utilizadas, aún actualmente (Page, 2011).

Ante el uso de estos antibióticos, rápidamente se identificó la presencia de mecanismos de resistencia en las bacterias. Las betalactamasas, por ejemplo, son enzimas capaces de inactivar betalactámicos al romper el puente amida del anillo penicilánico, evitando así que el antibiótico se una a las proteínas transportadoras PBP, y por tanto lleve a cabo su acción bactericida. (Morejón, 2013) En 1950, la betalactamasa clase A (penicilinasas) de *Staphylococcus* sp, era un problema importante de resistencia, y por ello entre 1962 y 1963 se empiezan a producir compuestos estables a esta betalactamasa: la meticilina de administración intramuscular y la nafcilina o cloxacilina de administración oral, las cuales fueron efectivas para el tratamiento de infecciones por *Staphylococcus*.

Para la década de 1960, fue *Pseudomonas aeruginosa* que se convirtió en el mayor problema, debido a que los compuestos existentes no mostraban gran actividad, y por esto se empieza a utilizar como tratamiento para este tipo de infecciones la carbenicilina y posteriormente la ticarcilina; ambas estables a las betalactamasas clase C de esta bacteria, aunque relativamente hidrolizables por la betalactamasa clase A. (Page. 2011). Posterior a esto se derivan otros compuestos de la ampicilina, como la piperacilina, activa contra *P. aeruginosa*, y bacterias Gram positivas.

En 1960 aparecen los antibióticos pertenecientes a la primera generación de cefalosporinas. En general las cefalosporinas son fundamentales en el tratamiento de infecciones serias por bacilos Gram negativos. A nivel hospitalario se ha documentado un incremento en la resistencia, dejando como única opción de tratamiento dentro de este grupo a los carbapenems (Morrill, *et al.*, 2015). Las cefalosporinas de primera generación poseen actividad contra *Staphylococcus* sp y *Streptococcus* sp principalmente, y en bajo nivel contra enterobacterias que no produzcan betalactamasas. Algunos antibióticos de esta subclase son cefalotina, cefalexina y cefazolina, entre otros; estos han sido ampliamente utilizados para tratamiento de infecciones de tracto urinario, respiratorio y como profilaxis quirúrgica. La segunda generación de cefalosporinas, surgen en la década de 1970 con actividad similar a la generación anterior, pero con mayor estabilidad a betalactamasa clase A (Page. 2011). Algunas drogas pertenecientes a este grupo con uso clínico son la cefuroxima (aplicable vía intravenosa) y el cefaclor, útiles para el tratamiento contra *Moraxella catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Neisseria*, y *Providencia*.

Para el tratamiento de infecciones severas en pacientes hospitalizados, aparecen las cefalosporinas de tercera generación, la mayoría con administración parenteral y mayor actividad contra bacilos Gram negativos como *E. coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Serratia*, *Providencia*, *Proteus*, *Morganella*, *Neisseria* y *Bacillus fragilis*. Entre los antibióticos más utilizados de este grupo se encuentra: cefotaxime, ceftazidima, cefexime, cefdinir y ceftriaxona. La cuarta generación, tiene la mayor actividad contra Gram negativos, especialmente para organismos con mayores patrones de resistencia; los

antibióticos más utilizados son cefepime y cefpirome (Page, 2011). Al igual que ceftazidima, resisten las bombas de eflujo de *P. aeruginosa*, sin embargo, resisten mejor a las Betalactamasas clase C (Takeda, *et al.*, 2007).

Los antibióticos de esta clase desarrollados con gran actividad anti *Staphylococcus* son la ceftarolina y el ceftobiprole, ambas drogas útiles para el tratamiento en infecciones complicadas de piel y neumonía adquirida en la comunidad (Goodman & Martin, 2012). Las cefamicinas, fueron desarrolladas a partir de *Actinomycetes* y se caracterizan por buena estabilidad ante betalactamasas clase A en comparación con otras penicilinas y las cefalosporinas (Page, 2011). Tiene actividad similar a las cefalosporinas de segunda generación, y dentro de los más utilizados se encuentra el cefoxitin y ceftotetan.

Los carbapenems, se desarrollaron a partir de metabolitos de *Streptomyces* spp y surgen como respuesta a la búsqueda de inhibidores de beta lactamasas. A la fecha existen más de 50 antibióticos dentro de esta familia, y dentro de estos, los más utilizados son imipenem, ertapenem, meropenem y doripenem. Estos antibióticos suelen utilizarse como último recurso de tratamiento para bacilos Gram negativos, y por ello la vigilancia a la resistencia en este grupo es de especial importancia, pues en caso de resistencia las opciones que quedan disponibles son de limitada eficacia y altos niveles de toxicidad, por ejemplo, polimixinas, fosfomicina y aminoglucósidos (Morrill, *et al*, 2015). Dentro de la línea de evolución de los betalactámicos, surgen después los penems y oxapenems, y posteriormente la beta lactámicos monocíclicos, todos ellos sin gran éxito clínico a excepción del aztreonam, con la característica de ser hidrolizada por las betalactamasas de espectro extendido, pero no por las metalobetalactamasas (Page, 2011).

En la búsqueda de nuevos inhibidores de betalactamasa, se descubre el ácido clavulánico, que en combinación con betalactámicos como amoxicilina y ticarcilina resultó con gran actividad contra Gram negativos con betalactamasas de acción limitada e incluso algunas enterobacterias BLEE (Page, 2011). Se utilizan en infecciones serias y el desarrollo de nuevas combinaciones ha sido útil en el tratamiento organismos multirresistentes. Algunas combinaciones son, por ejemplo, piperacilina con tazobactam o el sulbactam, el cual es

considerablemente más estable que el ácido clavulánico, aunque menos potente, en combinación con ampicilina (Buynak, 2006). Muy recientemente han se ha empezado a comercializar nuevas combinaciones activas contra algunas carbapenemasas, como ceftazidima-avibactam, ceftalozano-tazobactam, ofreciendo una alternativa de tratamiento altamente efectiva a los países que enfrentaban una crisis por multiresistencia, por ejemplo, es el caso de *Klebsiella* con KPC en países de Suramérica (Castanheira M, *et al.* 2011; Castanheira M, *et al.* 2012).

A pesar de su gran efectividad al tratar focos infecciosos, todos estos antibióticos, poseen efectos adversos como reacciones alérgicas, el aumento en la tasa de infecciones por *C. difficile* y las interacciones con otros medicamentos que disminuyen su efectividad o causan efectos secundarios como náuseas, diarrea y dolores abdominales (CDC, 2013). Aunado a esto, el uso de antibióticos genera una presión selectiva en el ambiente hospitalario que conlleva al desarrollo de resistencia, y con ello, la complicación de los tratamientos para los mismos pacientes, por lo cual es recomendable evitar su uso si no es estrictamente necesario y optimizar los tratamientos antimicrobianos de forma personalizada cuando se requiera.

1.1.4. Complicaciones asociadas al uso de antibióticos en pacientes hospitalizados

Toxicidad, resistencia y diarrea asociada al uso de antibióticos.

A pesar de la efectividad de los antibióticos para detener o eliminar el avance de una infección en un paciente, los antibióticos suelen causar uno o varios efectos secundarios. Uno de ellos es la toxicidad, la cual varía para cada familia de antibióticos. La toxicidad ocurre al administrar altas dosis, por amplios períodos o en pacientes con baja tolerabilidad, por ejemplo, pacientes con disfunción renal (Yilmaz & Özcengi, 2017).

Algunas drogas conocidas por su toxicidad son los aminoglucósidos y los glucopéptidos; ambos tienen rangos terapéuticos estrechos, donde la diferencia entre la dosis terapéutica y la dosis tóxica es muy pequeña. Al sobrepasar la dosis terapéutica los aminoglucósidos causan fácilmente problemas de ototoxicidad y nefrotoxicidad (Avent, *et al*, 2011), mientras que los glucopéptidos pueden causar fototoxicidad y nefrotoxicidad hasta en el 32% de los casos, por lo cual es recomendable realizar los ajustes de dosis basados en la monitorización terapéutica (Dubee, *et al*, 2013; Rybak *et al* 2009).

Otras familias de antibióticos que en algunos casos se han relacionado a efectos tóxicos son las fluoroquinolonas, causando problemas cardiovasculares, tendinopatía y fototoxicidad (Saint *et al*, 2001), las polimixinas que pueden causar neurotoxicidad y nefrotoxicidad (Falagas, *et al*, 2006) y los macrólidos que suelen generar toxicidad cardíaca, problemas gastrointestinales, hepatotoxicidad y ototoxicidad (Altenburg *et al* 2014).

En contraste, respecto a los betalactámicos, en general se ha considerado que tienen un intervalo de seguridad amplio, pero, desde que se empezaron a utilizar se ha descrito que las penicilinas pueden desarrollar efectos relacionados a la dosis, por ejemplo, causar hepatotoxicidad, neutropenia, y encefalopatía (Fossieck, *et al* 1974). Las cefalosporinas a altas dosis pueden generar nefrotoxicidad, neutropenia y neurotoxicidad, en particular esto último al utilizar cefepime (Norrby, 1987); y finalmente los carbapenems que suelen causar

neurotoxicidad, esto en mayor medida que las penicilinas y cefalosporinas en general (Norrby, 1996).

Otro efecto adverso, relacionado al uso de antimicrobianos, es la aparición de resistencia. Es un fenómeno que tiene lugar en la microbiota, en presencia de un antibiótico y ocurre cuando una bacteria no susceptible sobrevive o se multiplica más rápidamente que la población susceptible, sobrepasándola en número. Esta resistencia puede adquirirse por mutaciones aleatorias o por transferencia lateral de genes, pero en general el aumento de la resistencia se ve acelerado por el uso inadecuado de antibióticos; por ejemplo, malas prácticas en el control de infecciones, condiciones sanitarias inadecuadas, ausencia o diagnósticos errados, el mal uso de los mismo en la agricultura o ambiente, la migración, entre otros. (Nathwani, 2018).

La resistencia a los antibióticos tiene implicaciones severas en la salud pública; cada año en Estados Unidos, al menos 2 millones de personas adquieren una infección por un microorganismo resistente a más de un antibiótico, y al menos 23 000 personas mueren como resultado directo de una complicación (CDC, 2013). En las unidades de cuidado intensivo, es común la selección de microorganismos con fenotipos resistentes, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* meticilino resistente, *Enterococcus* vancomicina resistente, *Pseudomonas aeruginosa* o *Acinetobacter* sp multidrogo resistentes, *Escherichia coli* resistente a fluoroquinolonas o algunas especies de hongos; lo cual tiene implicaciones directas en la elección y duración del tratamiento antibiótico que deben recibir los pacientes (Martin & Yost, 2011).

Finalmente, otro efecto adverso, es el que ocurre como consecuencia indirecta de la acción bactericida o bacteriostática en la microbiota de los pacientes, particularmente en la microbiota intestinal. Esta disbiosis causa otra importante complicación clínica: la diarrea asociada al uso de antibióticos, con *C. difficile* como primer agente etiológico, y *K. oxytoca* y *S. aureus* como agentes de menor frecuencia, entre otros (Gorkiewicz, 2009).

La diarrea asociada al uso de antibióticos ocurre mayoritariamente en adultos mayores hospitalizados, que al administrársele por tiempo prolongado antibióticos, en particular la

ampicilina, amoxicilina, cefalosporinas, clindamicina y fluoroquinolonas (Owens, R *et al*, 2008), inducen una disbiosis en la microbiota intestinal que, aunado a la colonización de esporas de *C. difficile* en el ambiente hospitalario, causa la infección y la producción de toxinas en el intestino, dañando la mucosa y provocando una diarrea severa con complicaciones como la colitis fulminante, megacolon tóxico, perforación de intestino, sepsis y muerte (Rubnik, *et al*, 2009).

Es una complicación tan habitual que se ha estimado que, en los hospitales europeos, este patógeno se valoró como el agente causal más frecuente de enfermedades gastrointestinales asociadas a la atención de la salud (CDC, 2013). Lo anterior, incide significativamente en la morbilidad, mortalidad, días de estadía y costos económicos (Ramírez & Bouza, 2018), ya que se estima que, cada año hay 400 000 casos, 250 000 personas cada año requieren hospitalización y ocurren 29 000 muertes, aumentando los costos hasta en 1 billón de dólares (CDC, 2013; Lessa *et al*, 2015).

Alteración farmacocinética en pacientes hospitalizados.

Administrar dosis excesivas o insuficientes de un antimicrobiano, pueden impactar directamente en el resultado clínico del paciente, ya sea por la incapacidad de controlar una infección o por sus efectos tóxicos, pero además de esto, impacta en el ambiente hospitalario y por ende en los otros pacientes también hospitalizados, pues dosis subterapéuticas generan cepas resistentes que colonizan las superficies hospitalarias, por ejemplo, en las unidades de cuidado intensivo (Roberts *et al*, 2008).

Estos errores en la dosificación suceden cuando no se alcanzan las concentraciones del fármaco esperadas en el sitio blanco. Esto ocurre en pacientes hospitalizados con algunas características en particular o en pacientes críticamente enfermos, en quienes es posible detectar alteraciones en la farmacocinética de los medicamentos; ocasionadas tanto por el mismo deterioro fisiológico como por las intervenciones terapéuticas, por ejemplo: la presencia de enfermedades crónicas, administración de largos volúmenes de fluidos intravenosos, uso de medicamentos vasoactivos, la aplicación de modalidades de soporte

extracorpóreo e incluso irregularidades antropométricas. Lo anterior, aunado a la disfunción de órganos mayores, resulta en concentraciones subterapéuticas o tóxicas (Martin & Yost, 2011; Udy *et al*, 2018).

En general el error al seleccionar la dosis o la frecuencia de administración de un medicamento en estos pacientes, ocurre al basarse en dosis recomendadas por las casas farmacéuticas o en estudios clínicos realizados en pacientes sin este tipo de alteraciones; como consecuencia de esto, en los últimos años y con el objetivo de disminuir las complicaciones por el uso de antibióticos, como largas estancias hospitalaria, infecciones por multirresistentes y la elevada mortalidad; las organizaciones internacionales, recomiendan elegir la terapia antibiótica empírica basada en la susceptibilidad local y realizar la optimización de la dosis de antibióticos en pacientes con farmacocinética alterada, para así maximizar el beneficio clínico y minimizar el riesgo de toxicidad. Una estrategia para ello es, por ejemplo, la administración del antibiótico en infusión prolongada (Campion, M & Scully G, 2018).

Para realizar la optimización de la dosis de antibióticos en un paciente infectado se recomienda considerar lo siguiente: la clínica del paciente, los parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD, por sus siglas en inglés). Dentro de las condiciones clínicas, debe tomarse en cuenta el sitio de la infección, la severidad de la enfermedad, la composición corporal, los patógenos más probables y los patrones de resistencia local (Onufrak, *et al*, 2016).

La farmacocinética (PK) de una droga, se refiere a la tasa de cambio de la misma, mientras atraviesa un sistema biológico. Es gobernada por cuatro principios esenciales: absorción, distribución, metabolismo y excreción, que responden a las condiciones fisiológicas del paciente. (Bennett. *Et al*; 2015; Onufrak, *et al*, 2016). Algunas de las consideraciones farmacocinéticas más importantes que deben tomarse en cuenta son las propiedades fisicoquímicas del medicamento, la principal de ellas es la solubilidad relativa del antibiótico, que tendrá un impacto significativo en el volumen de distribución (Vd) y por lo tanto determinará el nivel de penetración en el sitio de infección. Debe además

considerarse la unión a proteínas del fármaco, pues solo el fármaco libre tiene efecto y por último la vía de eliminación del fármaco, pues la disfunción del órgano ya sea renal o hepático, afecta significativamente la misma; por ejemplo, en fallo renal se aumenta la concentración del antibiótico y en aclaramiento renal elevado, por el contrario, se disminuye la concentración el antibiótico en el plasma sanguíneo (Bennett, *et al*; 2015; Onufrak, *et al*, 2016).

La farmacodinamia (PD) corresponde a los efectos bioquímicos y fisiológicos del medicamento en el paciente. Con respecto a las consideraciones farmacodinámicas (PD) de los antibióticos, debe evaluarse: el tiempo que toma matar a la bacteria, los modelos de infección preclínicos y los efectos post antibióticos (PAE, por sus siglas en inglés) que determinará la duración final de la acción (Ambrose. *Et al*, 2007). Por ejemplo, cuando un antimicrobiano prácticamente no tiene PAE (<1 h), normalmente requiere múltiples dosis para asegurar la adecuada cobertura (Craig, 1993).

Todas las consideraciones descritas anteriormente, han sido tomadas en cuenta, por organismos internacionales al realizar guías y recomendaciones clínicas basadas en la optimización de la dosis. Así, por ejemplo, el CDC aconsejó desde 2014, que para lograr la optimización de las dosis en algunos casos particulares como bacterias altamente resistentes, cuando se requiera alcanzar concentraciones en el sistema nervioso central o al administrar infusiones prolongadas de betalactámicos, debería hacerse ajustes basados en la monitorización terapéutica de medicamentos, esto como medida para luchar contra la resistencia antibiótica (CDC, 2014). Y aunado a ello, la “Guía Internacional para el manejo de sepsis severa y shock séptico” publicada para 2016 estableció que, a raíz de los problemas para alcanzar las dosis óptimas de betalactámicos en pacientes críticos con sepsis, se debía empezar a exigir esfuerzos para ampliar el acceso a la monitorización terapéutica de medicamentos para múltiples antimicrobianos (Rhodes, *et al*, 2017).

Lo descrito anteriormente debería realizarse siempre en acompañamiento del equipo de Programa de Optimización de los Antimicrobianos (PROA) de la institución, quienes, basados en evidencia, proponen guías clínicas de tratamiento empírico, pautas para la

recolección apropiada de las muestras de laboratorio, uso de pruebas diagnósticas moleculares, optimización de la dosis de antibióticos y reducción de la duración de la terapia (Campion, M & Scully G, 2018).

1.1.5. Monitorización terapéutica

La monitorización terapéutica de los fármacos o TDM por sus siglas en inglés, se considera una disciplina desde 1970, cuando se monitoreaban unos pocos anticonvulsivantes, hasta la actualidad, disponible como prueba de rutina en muchos laboratorios clínicos. La TDM consiste en la medición de la concentración de un fármaco en una matriz biológica, en general plasma sanguíneo, a un tiempo determinado y permite con el resultado, evaluar el cumplimiento de un rango terapéutico conocido, al asumir que la concentración en sangre puede relacionarse al efecto farmacológico en el sitio de acción; así por medio de esta medición podrá establecerse si se encuentra en un rango subterapéutico, terapéutico o tóxico (Amitava, 2012).

En general, no todos los fármacos se monitorean, pues solo se realiza cuando no es posible contar con un parámetro de seguimiento. Algunos criterios de inclusión para ser candidato al monitoreo son (Escobar, 2016):

- Buena correlación entre el efecto farmacológico o tóxico y la concentración
- Estrecho margen terapéutico
- Alta variabilidad inter e intraindividual farmacocinética.
- Efecto farmacológico difícil de medir.
- Metodología analítica disponible y rápida obtención del resultado.

Algunos fármacos que cumplen los criterios anteriores son los anticonvulsivantes, debido a su metabolismo hepático, interacciones en la absorción, alta unión a proteínas y dificultad de adherencia, algunos de ellos son el ácido valproico, carbamazepina, fenitoína y fenobarbital (André *et al*, 2015). También algunos inmunosupresores, para evitar toxicidad, evaluar adherencia y garantizar las tasas de rechazo de órganos trasplantados, tal es el caso de la ciclosporina, metotrexato, sirolimus, tacrolimus y el ácido micofenólico (Segeer *et al*, 2016). Dentro del grupo de antimicrobianos que suelen medirse habitualmente se encuentran los aminoglucósidos: amikacina y gentamicina, la vancomicina y el voriconazol, todos ellos se miden en plasma o suero (Escobar, 2016).

Para la monitorización terapéutica de los fármacos en los laboratorios clínicos, suelen utilizarse inmunoensayos, que requieren alta sensibilidad y especificidad, así como rapidez y fácil manipulación de la muestra (FDA, 2001; Peters, *et al*, 2007). La mayoría de los análisis se realizan en sangre, ya sea plasma o suero, pues tienen buena correlación con el efecto terapéutico. La monitorización suele realizarse al alcanzar la fase estacionaria, es decir al pasar algunas dosis, y para cada antibiótico varía si se extrae la muestra en el valle o pico; lo importante, es conocer la hora exacta de la toma de muestra para interpretar los resultados correctamente (Escobar, 2016).

Al interpretar el resultado es imperativo conocer con anterioridad el rango terapéutico aceptable y la concentración deseada para cada paciente. Además, debe tenerse conocimiento de la vía de administración del medicamento, la metodología analítica, las condiciones de toma de muestra y las alteraciones farmacocinéticas del paciente (Escobar, 2016).

Monitorización terapéutica de betalactámicos.

Si bien se conoce que los antibióticos betalactámicos, no cumplen los criterios clásicos para ser un fármaco que debe ser monitoreado, pues no tienen un rango terapéutico estrecho (Escobar, 2016), en la primera revisión sistemática realizada en 2012 sobre la farmacocinética de betalactámicos en pacientes críticamente enfermos se estableció como la monitorización terapéutica de medicamentos (TDM) podría potencialmente ser de utilidad como parte de la optimización individualizada (Sime, *et al*, 2012).

Por primera vez se determinó que existía información emergente que apoyaba el uso de la TDM y la optimización individualizada, concluyendo que había muy pocos estudios hasta ese año que reportaran la utilidad del monitoreo en la dosificación; sin embargo, que sí existía un pequeño consenso en que eran necesarios estudios farmacocinéticos para lograr optimizar la terapia antibiótica. Para ese momento se recomendó realizar más estudios clínicos para documentar el impacto clínico que tendría la TDM en el resultado de los pacientes, pues sus beneficios hasta entonces eran únicamente teóricos (Sime, *et al*, 2012).

Actualmente, ya es conocido, que al obtener concentraciones de betalactámicos en sangre es posible controlar el cumplimiento de los parámetros PK/PD. Pues para los betalactámicos, por ejemplo, se debe considerar mantener concentraciones constantes que sobrepasen la MIC, den un 20 – 40% del tiempo sobre la MIC para efecto bacteriostático y un 40-10% del tiempo sobre la MIC para un efecto bactericida. Para lograr estas concentraciones, se deben dar una dosis de carga o infusiones prolongadas para acelerar la acumulación de los niveles del medicamento (Craig, 1998).

En la actualidad son muchos los autores, guías internacionales y organizaciones las que recomiendan ampliamente su monitoreo, pues permiten optimizar la acción del medicamento en los pacientes, al modificar las dosis, frecuencias y velocidades de administración (CDC, 2014; Rhodes, *et al*, 2017; Zylbersztajn, 2018).

A pesar de la gran cantidad de autores que recomiendan realizar esta medición en pacientes con algunas alteraciones farmacocinéticas, a la fecha, no existen metodologías comerciales disponibles, y al revisar la literatura, destaca que cada grupo de investigadores utiliza distintas técnicas analíticas, además de diferentes protocolos de toma de muestra, dejando inconcluso cuál es la mejor metodología y la más factible para los laboratorios clínicos que quieren realizar el ensayo (Wong, *et al.*, 2014). Además, hasta 2015 no existían suficientes estudios clínicos prospectivos que demostraran los beneficios de realizar la TDM de los betalactámicos en condiciones reales de un centro médico (Morales, 2015).

1.2. Justificación

Las enfermedades infecciosas representan el 43% de la carga mundial de morbilidad e impactan significativamente los costos para los sistemas de salud del mundo (Vincent, *et al.* 2009). Dentro de un centro hospitalario, los pacientes con infecciones de origen comunitario que requieren hospitalización y los pacientes con infecciones asociadas a la atención de la salud, particularmente frecuentes en los pacientes críticamente enfermos infectados, son quienes consumen la mayor parte de las dosis de antibióticos dentro de centro hospitalario.

En Costa Rica, al igual que en América Latina, más de un 50% del consumo total, corresponde a penicilinas y betalactámicos (OMS, 2018). A pesar de la efectividad de estos antibióticos para tratar estas infecciones, suelen asociarse a efectos adversos, Este ellos problemas de toxicidad, la selección de microorganismos resistentes y las diarreas asociadas al uso de antibióticos.

Estos efectos adversos suelen ser más frecuentes en pacientes con alteraciones farmacocinéticas, pues es común que alcancen concentraciones subterapéuticas o tóxicas, que, aunado a la gran cantidad de evidencia que sustenta la necesidad de optimizar las dosis de antibióticos considerando los parámetros de PK/PD, ha llevado a la elaboración de guías de manejo y a la emisión de recomendaciones por parte de organizaciones internacionales que aconsejan realizar la monitorización terapéutica de los betalactámicos para mejorar el resultado clínico de los pacientes y como medida de lucha contra la resistencia antibiótica (CDC, 2014; Rhodes, *et al.*, 2017).

A pesar de las recomendaciones y la existencia de evidencia que respalda los beneficios de realizar la implementación de la monitorización de betalactámicos; actualmente no existen metodologías comerciales disponibles, y hasta 2015 no existían suficientes estudios clínicos prospectivos que demostraran estos beneficios (Morales, 2015). Por ello surge la necesidad de recopilar información que posibilite la implementación de la monitorización en el sistema de salud de Costa Rica

1.3. Pregunta de Investigación

¿Los métodos analíticos para el monitoreo terapéuticos de antibióticos betalactámicos en la literatura permiten la elaboración de guías clínicas y su implementación en el sistema hospitalario costarricense?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Evaluar los métodos analíticos para el monitoreo terapéuticos de antibióticos betalactámicos en la literatura para la elaboración de guías clínicas y su implementación en el sistema hospitalario costarricense.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Analizar los factores fisiopatológicos, farmacológicos y bacterianos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.
- Determinar los beneficios asociados a la monitorización terapéutica de los betalactámicos en la optimización de la respuesta farmacoterapéutica.
- Describir las metodologías analíticas recomendadas internacionalmente para realizar la monitorización terapéutica de los betalactámicos.

1.5. Hipótesis

Hi: Los métodos analíticos para el monitoreo terapéuticos de antibióticos betalactámicos en la literatura permiten la elaboración de guías clínicas y su implementación en el sistema hospitalario costarricense

Marco Metodológico

2.1. Tipo y diseño de investigación

Revisión de tipo bibliográfica

2.2 Metodología

Se realizó una revisión bibliográfica sobre las metodologías utilizadas para determinar betalactámicos para lo cual se recolectó información, entre agosto del 2019 y marzo 2021, mediante una investigación en bases de datos digitales, libros de texto impresos y revistas indexadas en inglés y español.

Para llevar a cabo la revisión de literatura se utilizaron los siguientes buscadores: SIBDI, Sistema de Bibliotecas de la Universidad de Costa Rica página web: <http://sibdi.ucr.ac.cr/>, Pub Med- NCBI (The National Center for Biotechnology Information) página web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>, Springer página web: <http://www.springer.com/>, ScienceDirect página web: <http://www.sciencedirect.com/>, SciELO (Scientific Electronic Library Online) página web: <http://www.scielo.org/>, Elsevier página web: <http://www.elsevier.com/> y Google académico página web: <http://scholar.google.com/>. Para realizar las búsquedas se utilizaron las siguientes palabras clave: beta lactámicos, monitorización terapéutica, farmacocinética, farmacodinamia o dosificación.

Para realizar la comparación de las metodologías utilizadas internacionalmente para la determinación de los betalactámicos, se realizarán cuadros comparativos con información de tipo cualitativa y cuantitativa. Para esto se tomarán en consideración todos los artículos originales disponibles con información comparable donde se hayan utilizado metodologías analíticas validadas.

Criterios de elegibilidad para realizar la comparación de metodologías:

-Inclusión

Artículos publicados entre enero 2008 y octubre 2021

Artículos originales

Artículos que hayan realizado la validación de la metodología e incluyan esa información.

-Exclusión

Artículos con fecha de publicación previa a 2008 (con algunas excepciones).

Artículos de tipo revisión bibliográfica o revisión sistemática

2.3. Sistema de variables

Para evaluar las metodologías utilizadas por distintos autores para la determinación de betalactámicos, se realizó un análisis comparativo utilizando las siguientes variables:

- Tipo y volumen de muestra necesaria
- Duración del procesamiento
- Precisión del ensayo
- Cantidad de analitos cuantificables
- Límite de detección del analito
- Tipo de extracción
- Estándar interno
- Recuperación del analito

Desarrollo

3.1. Factores bacterianos, farmacológicos y fisiopatológicos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.

3.1.1 Factores bacterianos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.

En la práctica clínica cuando se sospecha que un paciente enfrenta un cuadro infeccioso con etiología bacteriana, es común iniciar una terapia empírica basada en los microorganismos sospechosos según el sitio de infección y la epidemiología local del centro hospitalario. Sin embargo, para poder garantizar un abordaje farmacológico adecuado, particularmente en pacientes que cumplen algunos criterios de severidad o factores de riesgo para organismos multirresistentes, se recomienda el envío de una muestra al laboratorio para su cultivo. Posteriormente cuando el laboratorio clínico emite el resultado del cultivo, se incluye el recuento del microorganismo, la identificación taxonómica del mismo y la prueba de sensibilidad a antibióticos (PSA); basado en esto, el médico debe adecuar el tratamiento, ya sea que esto signifique escalar o desescalar la terapia antibiótica (Veringa *et al*, 2016).

El reporte de PSA emitido por el laboratorio de bacteriología, incluirá para cada bacteria identificada y antibiótico probado, un resultado de concentración mínima inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés); la cual corresponderá a la concentración más baja a la cual el antibiótico analizado logra inhibir el crecimiento visible o detectable, ya sea por pruebas manuales o equipos automatizados. El resultado de la MIC equivale a la medida de la potencia del fármaco contra un microorganismo en particular y esto es un parámetro esencial de la farmacodinamia (Mouton *et al*, 2011).

El valor de la MIC corresponde a una aproximación del efecto del antibiótico en el patógeno, pues es una prueba *in vitro*, afectada únicamente por determinadas variaciones en las condiciones en que se realiza la prueba, por ejemplo, los cambios en el pH o los tiempos

de incubación. En condiciones reales de una infección clínica, *in vivo*, el proceso es multifactorial y dinámico, por lo cual la actividad bactericida puede ser mayor o menor a lo inferido por el resultado de la MIC, así la MIC podría incluso variar en el tiempo por efecto de la selección de clones resistentes (Mouton *et al*, 2018).

Estatus bacteriano: Resistencia, susceptibilidad, tolerancia y persistencia

El estatus bacteriano se refiere al fenotipo bacteriano expresado según la exposición al antibiótico. Según la MIC es posible definir si una cepa bacteriana específica es sensible o resistente a un antibiótico determinado. Cuando la MIC tiene valores superiores al punto de corte, según los parámetros establecidos para cada antibiótico por consensos internacionales como la CLSI o EUCAST, se considera que tiene susceptibilidad disminuida, y se interpretará como “intermedio”; y en muchas ocasiones esto es indicativo de que se requiere un ajuste de dosis para maximizar la exposición y maximizar el efecto del antibiótico (Kahlmeter *et al*, 2017).

La utilización del parámetro Duración Mínima para Matar (MDK, por sus siglas en inglés), permiten definir el estatus de persistencia y tolerancia al utilizar antibióticos bactericidas. Cuando una cepa es tolerante, requerirá mayor tiempo para eliminar una población bacteriana, en comparación con una población susceptible o sensible, aun cuando el valor de MIC de ambas no sean diferente (Braunner *et al*, 2016). En el caso de una población persistente, ocurre una respuesta heterogénea, pues una subpoblación, menos del 1%, no logra eliminarse con el antibiótico (Lewis, 2007).

Biopelículas

La formación de una biopelícula por parte de comunidades bacterianas es un aspecto que afecta directamente el tratamiento y la determinación de la sensibilidad a antibióticos. El tratamiento de una infección cuando se ha formado una biopelícula puede ser muy retardador, esto porque la matriz de polisacáridos protege a las bacterias de los antibióticos, así como de la respuesta innata y adaptativa; pero además de esto, las bacterias asumen un estado latente, lo cual las hace más persistentes y con menor respuesta a los antibióticos, pues muchos de ellos basan su acción en su metabolismo y proliferación, que en este caso se encuentra

detenido. En la actualidad se han propuesto péptidos antimicrobianos como una alternativa de tratamiento para erradicar las formaciones de este tipo (Galdiero, *et al*, 2019).

En respuesta al desafío que significa determinar la sensibilidad a antibióticos en aislamientos bacterianos causantes biopelícula, se han desarrollado nuevos métodos estandarizados con resultados clínicamente significativos, es decir, que sus resultados se correlacionen correctamente con el resultado del tratamiento.

Para esto se han sugerido diferentes parámetros farmacodinámicos para evaluar la actividad antimicrobiana en bacterias productoras de biofilms. Algunos de estos parámetros son: la concentración mínima de erradicación de la biopelícula (MBEC), la concentración mínima inhibidora de la biopelícula (MBIC), la concentración bactericida de biopelícula (BBC) y la concentración de prevención de biopelícula (BPC) (Marcia, M.D *et al*, 2014).

Inóculo bacteriano

El efecto inóculo, se refiere al aumento de la MIC *in vivo* por causa del incremento de tamaño del inóculo bacteriano a nivel del foco de la infección. Este determinante, causa directamente la disminución de la actividad del antibiótico en el sitio de infección y además se ha estudiado como un posible seleccionador de mutantes resistentes (Li *et al*, 2017, Ferran *et al*, 2007)

Todos los factores descritos anteriormente, van a influenciar directamente la acción antimicrobiana, facilitando o dificultando la erradicación de una infección. A raíz de eso y la dificultad de encontrar nuevos antibióticos en el contexto de la emergencia de la resistencia antibiótica a nivel global, en la actualidad, como parte de los programas de optimización en el uso de antibióticos se ha comenzado a utilizar parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos que logran enlazar la respuesta microbiológica y la exposición de un antibiótico, dentro de un contexto clínico (Mouto *et al*, 2002).

Entonces, al utilizar la TDM como herramienta en la optimización de las dosis de beta lactámicos, es necesario determinar de previo el objetivo PK/PD que se desea alcanzar para cada paciente, y para ello es necesario conocer los factores fisiopatológicos actuales, individuales y microbiológicos, para lo cual se puede utilizar la información de la epidemiología local o la MIC propia de cada cepa bacteriana que infecta al paciente y las características propias del medicamento elegido.

3.1.2 Factores farmacológicos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.

Para poder demostrar la efectividad de un antimicrobiano, es necesario utilizar los parámetros farmacocinéticos/farmacodinámicos (PK/PD). Algunas de las características específicas de los betalactámicos que afectan directamente estos parámetros y que deben considerarse al realizar la optimización de la dosis vía parenteral se mencionan en el Cuadro 1. (Onufrak, *et al*, 2016):

Cuadro 1. Propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de los betalactámicos

Propiedades farmacocinéticas	Propiedades farmacodinámicas
a) Son hidrosolubles	a) Efecto post antibiótico mínimo (PAE, por sus siglas en inglés), con excepción de los carbapenémicos.
b) Poseen de baja a moderada unión a proteínas (a excepción de la cefazolina, ceftriaxona, ertapenem y nafcilina/oxacilina que tienen alta unión a proteínas)	b) La erradicación de la bacteria es dependiente del tiempo de exposición al antibiótico.
c) Vía de eliminación principalmente renal (por filtración glomerular)	

Con respecto a las consideraciones farmacodinámicas (PD) de los antibióticos, debe evaluarse, el tiempo que toma matar a la bacteria, los modelos de infección preclínicos y los efectos post antibióticos (PAE, por sus siglas en inglés) que determinarán la duración final de la acción (Ambrose. *et al*, 2007). Por ejemplo, cuando un antimicrobiano prácticamente no tiene PAE (<1 h), normalmente requiere múltiples dosis para asegurar la adecuada cobertura, pues la población bacteriana residual podría rápidamente volver a aumentar su tasa de crecimiento. Este el caso precisamente de los beta lactámicos en infecciones dadas por

bacterias Gram negativas, pues el PAE es prácticamente nulo, mientras que, en infecciones causadas por Gram positivas, sí posee un pequeño PAE de < 2 h (Craig, 1993).

La eficacia de un antimicrobiano dependerá de la exposición del paciente al medicamento, y esta exposición se puede describir en algunos casos con el área bajo la curva de una relación tiempo-concentración (AUC) (Mouton *et al*, 2011). El valor de la AUC en conjunto con el valor de la MIC, permiten calcular tres diferentes índices de PD (Ver Cuadro 2), los cuales se logran definir determinando la PK de la exposición relativa a un valor determinado de MIC (Drusano, 2004):

Cuadro 2. Índices farmacodinámicos de los antibióticos

Índice	Definición
$f T > MIC$	porcentaje de tiempo que el fármaco libre permanece sobre la MIC en un periodo de 24 horas
$f AUC / MIC$	razón de fármaco libre bajo la curva de tiempo-concentración (AUC) a MIC en un periodo de 24 horas.
$f C_{max} / MIC$	razón de concentración máxima libre a MIC

Para muchos antimicrobianos el parámetro AUC/MIC es el índice PD más relevante, por ejemplo, para los glicopéptidos como la vancomicina. En contraste, para los aminoglucósidos el índice PD utilizado es C_{max} , donde el objetivo es alcanzar el pico o concentración máxima posible, para así conseguir alta efectividad y evitar crear resistencia (Roberts *et al*, 2014).

Sin embargo, los betalactámicos como las penicilinas o carbapenémicos, se comportan diferente a los fármacos anteriores, en general poseen una farmacodinámica tiempo-dependiente, es decir que el tiempo, cuando la concentración del fármaco libre permanece sobre la MIC del microorganismo que causa la infección, es el aspecto más relevante que predice el éxito del tratamiento, por ello el índice $f T > MIC$ es el que permite evaluar la efectividad (Mouton *et al*, 2011).

En general exposiciones cortas de 20-40% T>MIC suelen ser bacteriostáticas y exposiciones prolongadas de 40-70 % T>MIC suelen ser bactericidas. En el caso de los beta lactámicos, para un máximo de actividad bactericida, las penicilinas y monobactámicos requieren de 50 a 60 % T>MIC las cefalosporinas requieren de 60 a 70 % T>MIC y los carbapenémicos requieren valores superiores a 40 % T>MIC (Craig *et al*, 1998); por ejemplo, para imipenem y meropenem es particularmente importante la frecuencia de las dosis y la duración de la infusión del fármacos, pues hace posible garantizar que la mayor parte del tiempo exista una concentración superior a la MIC (Sun *et al*, 2005; Mouton *et al*, 2011).

Los investigadores han llegado a la conclusión que, para los betalactámicos, es más importante mantener dosis constantes que picos altos, para lograr tratamientos exitosos (Mohd *et al*, 2012), y para lograr esto una estrategia recomendada es dar una dosis de carga y posteriormente una administración continua, pero para realizarlo de forma óptima resulta necesario conocer la concentración en sangre, esto por medio de la cuantificación del antibiótico.

3.1.3 Factores fisiopatológicos relacionados con la monitorización de betalactámicos en el ámbito clínico.

Los pacientes críticamente enfermos, presentan alteraciones de su fisiología, como producto de su avanzada edad y las comorbilidades presentes. Realizar la optimización de la dosis es un problema que enfrentan los médicos a diario, debido a la complejidad de las enfermedades y a la reducida sensibilidad de los patógenos que infectan a estos pacientes. Los betalactámicos presentan una variabilidad significativa e impredecible en el grupo de pacientes críticamente enfermos, en particular, debido a las alteraciones en el volumen de distribución (Vd) y el aclaramiento (Cl), que responden a la severidad del paciente, la proteinemia, el fallo de órganos y al uso de estrategias terapéuticas como la Oxigenación Extracorpórea por Membranas (ECMO, por sus siglas en inglés) o la Terapia de Reemplazo Renal Continuo (CRRT, por sus siglas en inglés) (Roberts *et al* 2009; Uldemolins *et al*, 2011).

Los siguientes conceptos de farmacocinética deben ser entendidos al evaluar la farmacodinamia de un antibiótico:

-Vida media

Se define como el tiempo que le toma al cuerpo reducir a la mitad la concentración de un fármaco en plasma. Esta medida es directamente proporcional al volumen de distribución e inversamente proporcional a su aclaramiento (Patel & Kirkpatrick, 2017).

-Unión a proteínas plasmáticas:

Solo la fracción libre de un fármaco es activo metabólicamente y es la que produce la respuesta farmacológica e interacciona con los receptores; además el fármaco libre es el único que se distribuye, pues puede difundir a través de membranas biológicas al sitio de acción y ejercer su efecto farmacológico o tóxico. En su mayoría, los fármacos suelen unirse a la albúmina (Patel & Kirkpatrick, 2017).

Así mismo, también los siguientes principios de la farmacocinética deben considerarse al evaluar alteraciones fisiológicas (Ver cuadro 3):

-Volumen de distribución (Vd)

El Vd determina qué tan viable sea alcanzar de forma temprana la concentración del antibiótico deseada. Si el Vd aumenta, los antibióticos hidrofílicos como los betalactámicos, se diluyen para compensar el mayor volumen, así el fármaco va a moverse desde el plasma sanguíneo a estos compartimentos periféricos donde se encuentra el fluido extravascular, de esta forma si se cuantificara la concentración en el plasma sería menor a lo esperado en condiciones normales (Uldemolins *et al*, 2014). Algunos factores fisiológicos que aumentan el Vd son: edema, fuga capilar, terapia de fluidos, efusión pleural, ascitis, drenajes post quirúrgicos e hipoalbuminemia (Veiga & Palva, 2018).

-Aclaramiento (Cl)

Algunos factores fisiológicos que pueden aumentar el aclaramiento renal de los antibióticos son: trauma, quemaduras, condiciones hiperdinámicas en la fase temprana de una sepsis y el uso de drogas hemodinámicamente activas; por otro lado, otros factores que por el contrario disminuyen el aclaramiento renal son: fallo renal, pérdida muscular y la postración de los pacientes (Veiga & Palva, 2018).

Cuadro 3. Alteraciones fisiológicas que afectan la farmacocinética de los betalactámicos (Veiga & Palva, 2018).

Alteraciones fisiológicas	Efecto en la farmacocinética
a) Edema, fuga capilar, terapia de fluidos, efusión pleural, ascitis, drenajes post quirúrgicos e hipoalbuminemia.	a) Aumento en el Volumen de distribución (Vd)
b) Fallo renal, pérdida muscular y la postración de los pacientes	b) Disminución del Aclaramiento (Cl)
c) Trauma, quemaduras, condiciones hiperdinámicas en la fase temprana de sepsis y el uso de drogas hemodinámicamente activas	c) Aumento del Aclaramiento (Cl)

3.1.3.1 Cambios farmacocinéticos a contemplar en el paciente hospitalizado

En los pacientes hospitalizados ocurren procesos fisiológicos dinámicos que van a alterar la farmacocinética, por ejemplo, el aclaramiento y el volumen de distribución de un medicamento; algunos de estos procesos fisiopatológicos frecuentes son los siguientes:

Aclaramiento Renal Aumentado (ARC por sus siglas en inglés)

En pacientes críticamente enfermos o sépticos, es común encontrar un aclaramiento renal (CLcr) aumentado, el cual se define cuando el aclaramiento de la creatinina es superior a 130 ml/min/1.73 m². El ARC sucede en algunos casos al estar prescritos vasopresores que aumentan el gasto cardiaco, lo cual aumenta la perfusión renal y por ende la filtración glomerular (Morales, 2015). Al ocurrir un ARC, se aumenta el riesgo de alcanzar una concentración subóptima en antibióticos hidrofílicos, tal como los betalactámicos (Sime *et al*, 2015).

Alteración del balance de fluidos

Es común en pacientes críticamente enfermos la disminución del volumen intravascular, esto puede ocasionar un posible efecto tóxico, por lo cual se recomienda aumentar el tiempo de infusión (Patel & Kirkpatrick, 2017).

Alteración del endotelio vascular

En pacientes infectados, la presencia de endotoxinas bacterianas, afectan al endotelio vascular. Esto causa una distribución anormal del flujo sanguíneo, que, aunado al daño endotelial y a la permeabilidad capilar aumentada, induce la liberación de fluido hacia el espacio intersticial, y a esto se le denomina síndrome de fuga capilar (Roberts & Lipman, 2009).

Disfunción orgánica

En pacientes con disfunción orgánica, renal o hepática, puede ocurrir la pérdida de la función, llevando a una disminución en el proceso de eliminación, causando concentraciones elevadas del antibiótico en plasma y una posible toxicidad (Morales, 2015). En otros casos, puede ocurrir un aumento de la función de los órganos, aumentando por el contrario el aclaramiento y llevando a un posible fallo terapéutico (Patel & Kirkpatrick, 2017).

La edad o la enfermedad crítica suelen ocasionar disfunción renal e insuficiencia metabólica, que hace necesaria la administración frecuente de otros fármacos que interaccionan a su vez con otros, contribuyendo a alteraciones en el aclaramiento (Roberts *et al*, 2009).

Alteraciones en la unión a proteínas

Alteraciones en la unión a proteínas de los fármacos es común en pacientes con estancias en la unidad de cuidados intensivos (UCI), debido principalmente a las alteraciones en la homeostasis plasmática de las proteínas; la alteración más frecuente es la hipoalbuminemia, se ha reportado que de un 40 a un 50% de los pacientes en la UCI tienen albuminemia menor a 25 g/l (SAFE, 2006). Por otro lado, la presencia aumentada de

proteínas de alta unión a medicamentos, como la bilirrubina, se considera también una alteración fisiológica que podría ocasionar un menor efecto antibiótico.

Generalmente la TDM suele realizarse midiendo la concentración del antibiótico total en sangre. Sin embargo, en pacientes con hipoalbuminemia, se ha demostrado que medir la concentración del antibiótico libre, puede ser más efectivo que medir el antibiótico total. Esto porque en estos pacientes la fracción libre es más alta, causando inicialmente un aumento de concentración de fármaco libre. Posteriormente, debido a que existe una mayor cantidad de fármaco libre disponible para su distribución y filtración glomerular y a que la fracción no unida es la que se elimina de la sangre renalmente o por el CRRT, se aumenta su eliminación y por tanto disminuye su concentración (Uldemolins *et al*, 2011; Morales, 2015).

Además de esto, la distribución cambia, aumenta en el tejido periférico, disminuyendo aún más la concentración del fármaco total en sangre; por esto la medición del fármaco total puede no ser representativo de la cantidad real, esto particularmente para fármacos de alta unión a proteínas, pues la alteración puede producir efectos más severos (Llamola *et al*, 2015).

3.1.3.2 Pacientes con alteración de su fisiología que afectan la concentración plasmática de betalactámicos

A) Pacientes con choque séptico

En estos pacientes es común encontrar un Vd aumentado, debido a la presencia de endotoxinas que desencadenan la producción de moléculas endógenas que causan la vasodilatación y la salida de fluido transcapilar y proteínas al espacio extracelular, sitio donde los antibióticos se distribuyen. Lo anterior aunado a que en el choque séptico ocurre inflamación sistémica y se suelen administrar grandes volúmenes de líquido como terapia de rescate; esto causará un aumento aún mayor del Vd lo que significará menores %T>MIC y por ende una posible menor actividad bactericida.

A razón de esto es que se ha recomendado la administración de una dosis de carga en las primeras 48 horas para compensar este aumento en el Vd y lograr alcanzar idealmente la concentración deseada en las primeras 24 horas (Uldemolins *et al*, 2011; Uldemolins *et al*, 2014). Es importante aclarar que, a diferencia de los pacientes con choque séptico, los pacientes con procesos infecciosos también podrían presentar un Vd elevado, pero en menor grado que los primeros.

Estos pacientes, podrían presentar, además de lo discutido anteriormente, un aumento del aclaramiento renal. Esto se debe al aumento del gasto cardiaco, que aumenta el flujo sanguíneo renal y a su vez la tasa de filtración glomerular (Jacobs *et al*, 2018).

B) Pacientes con CRRT

La terapia continua de remplazo renal (CRRT, por sus siglas en inglés), se realiza comúnmente en pacientes críticamente enfermos con daño renal agudo, sepsis severa o politraumatizados (Roberts *et al*, 2010). Al momento de iniciar la CRRT, la concentración de antibiótico se encuentra en equilibrio, pero en general la terapia rompe este equilibrio al inducir un cambio en el aclaramiento (Cl) que disminuye la concentración del antibiótico en sangre. Posterior a este cambio, se regresará a un nuevo estado de equilibrio, esto ocurre después de siete vidas medias aproximadamente. Para acelerar este proceso se ha recomendado la administración de una dosis de carga adicional, de modo que al romperse el equilibrio la concentración no caiga por debajo de los niveles terapéuticos deseados (Uldemolins *et al*, 2014).

Posterior las 24 horas cuando se alcanza nuevamente el equilibrio, el CRRT continúa aclarando el fármaco según la modalidad e intensidad de la eliminación del agua, esto especialmente con los antibióticos hidrofílicos, como los betalactámicos. Aunado a esto, los antibióticos que no se unen a proteínas, atraviesan la membrana que filtra y serán también eliminados con mayor facilidad. Es por esto que debe modificarse la dosis nuevamente, lo cual resulta muy complejo, sobre todo debido condiciones intrínsecas de cada paciente y a la función residual del riñón que varía para cada paciente diariamente aportando menor o mayor

aclaramiento al fármaco (Choi *et al*, 2009). Por ejemplo, en pacientes con hemofiltración se ha demostrado que según la actividad del riñón la farmacocinética de la piperacilina varía de forma significativa, cuando la Cl es mayor a 50 ml/minuto la concentración de antibiótico es tres veces mayor que cuando la Cl es menor a 50 ml/minuto (Arzuaga *et al*, 2006)

C) Pacientes con ECMO

La oxigenación extracorpórea por membrana (ECMO, por sus siglas en inglés) provee a pacientes críticamente enfermos un soporte cardíaco y respiratorio. Muchas veces de forma temporal mientras se realiza un trasplante de corazón o pulmones. Los pacientes con ECMO, tienen una alta predisposición a adquirir una infección asociada a la atención de la salud aumentando la mortalidad y prolongando el tiempo de soporte ventilatorio; esto aunado a la enfermedad crítica de los pacientes los hace sujetos a la utilización de antibióticos (Fraser *et al*, 2012).

Establecer una correcta dosificación de fármacos en estos pacientes es complejo, pues el ECMO altera los parámetros farmacocinéticos (PK), esto en particular en pacientes pediátricos y neonatos, pues aumenta el Vd, afectando en mayor parte a los fármacos hidrofílicos. Además, algunos autores mencionan que la membrana del dispositivo adsorbe fármacos hidrofílicos y el circuito a su vez también secuestra antibióticos, específicamente los lipofílicos o con alta unión a proteínas, por ejemplo, la ceftriaxona, y finalmente, al igual que la CRRT, el ECMO aclara el fármaco; siendo así que, si no se realiza un ajuste en la dosis, es probable que ocurra un fallo terapéutico (Sherwin *et al*, 2016; Cheng, *et al*, 2019). Estudios recientes han concluido que los circuitos modernos de ECMO causan una adsorción e impactan de forma mínima en la mayoría de los antibióticos y que finalmente las alteraciones en la PK, se deben más a la condición crítica del paciente, que a la misma terapia ECMO (Abdul-Aziz, *et al*, 2019).

D) Pacientes obesos

Los pacientes con obesidad, es decir, quienes poseen un índice de masa corporal superior a 30 kg/m², tienen una mayor predisposición a adquirir una infección asociada a la

atención de la salud, particularmente durante cirugías (Canturck *et al*, 2003). Además, en estos pacientes suelen ocurrir alteraciones de la farmacocinética de algunos antibióticos que complican el tratamiento de las infecciones, aumentando las tasas de mortalidad y morbilidad (Hites *et al*, 2012).

Algunas de las alteraciones que ocurren es una tasa de filtración glomerular aumentada. Aunado a esto, la mayor cantidad de tejido adiposo altera el Vd, tanto para fármacos hidrofílicos como lipofílicos (Salazar *et al*, 1988; Pieracci *et al*, 2006).

Muchos autores han descrito que incluso para alcanzar la concentración adecuada de betalactámicos, es necesario dar dosis muchos más elevadas, por ejemplo, para cefalosporinas de profilaxis quirúrgica, es necesario dar el doble de dosis que en pacientes no obesos (Pevzner, *et al*, 2011).

E) Pacientes quemados

Los pacientes que sufrieron una quemadura suelen colonizarse rápidamente de bacterias, debido a la pérdida de la barrera proporcionada por la piel, presencia de nutrientes en la lesión y proteínas coaguladas, que los hacen altamente susceptibles a infecciones asociadas a la atención de la salud y esto los hace consumir gran cantidad de betalactámicos (Fitzwater *et al* 2003).

Esto aunado a posibles factores que afectan la PK de fármacos, por ejemplo, una posible sepsis, deshidratación, concentración de proteínas séricas, edad, aclaramiento de creatinina, tiempo de las lesiones, y el total del área quemada y su profundidad, hacen necesarias dosis más altas del antibiótico para lograr la actividad bactericida (Blanchet *et al*, 2008; Scaglione *et al*, 2010). En estos pacientes es común encontrar cambios hemodinámicos y metabólicos inducidos por el trauma, por ejemplo, un mayor flujo sanguíneo, que causa un aumento de la filtración glomerular y por lo tanto un aumento en el aclaramiento de los beta lactámicos, así como una hipoalbuminemia y cambios metabólicos a nivel de riñón e hígado que afectan significativamente la farmacocinética (Roberts *et al*, 2009; Goncalves-Pereira *et al*, 2011).

F) Pacientes neonatos

Los pacientes neonatos, tienen importantes diferencias fisiológicas a los adultos, entre ellas, poseen inmadurez inmunológica, una microbiota distinta y una barrera (piel) así como respuesta humoral reducidas, lo que les hace altamente propensos a infecciones bacterianas (Shane *at al*, 2014). Los neonatos poseen un volumen de distribución mucho mayor a los adultos, además el hígado y riñones se encuentran inmaduros, por lo que su función de eliminación es menor (Wilboux *et al*, 2016).

A continuación, se presenta un cuadro resumen que, basado en la información recopilada para cada tipo de población, predice el efecto en la farmacocinética (%T>MIC) de los antibióticos betalactámicos. Esto según las distintas alteraciones fisiológicas esperadas para estos tipos de pacientes (Ver cuadro 4).

Cuadro 4. Poblaciones de pacientes con alteraciones fisiológicas y terapéuticas que afectan la farmacocinética de los betalactámicos

Población	Alteración fisiológica	Efecto farmacocinético	Concentración betalactámico	%T> MIC
Choque séptico	Vasodilatación (endotoxinas)	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye
	Respuesta inflamatoria	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye
	Administración fluidos	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye
	Aumento TFG (aumento gasto cardiaco/flujo sanguíneo)	Aumento CLr	Disminuye	Disminuye
CRRT	Aclaramiento y secuestro antibióticos	Aumento CLr	Disminuye	Disminuye
ECMO	Aclaramiento y secuestro antibióticos	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye
Quemados	Deshidratación (aumento proteínas séricas)	Disminución Vd	Aumenta	Aumenta
	Aumento TFG (aumento flujo sanguíneo)	Aumento CLr	Disminuye	Disminuye
	Hipoalbuminemia (mayor permeabilidad vascular y oxidación de la albúmina)	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye
Neonatos	Condición fisiológica intrínseca neonatal	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye
	Disminución TFG (riñones inmaduros)	Disminución Clr	Aumenta	Aumenta
Obesos	Aumento TFG	Aumento CLr	Disminuye	Disminuye
	Aumento tejido adiposo	Aumento Vd	Disminuye	Disminuye

3.2 Beneficios asociados a la monitorización terapéutica de los betalactámicos en la optimización de la respuesta farmacoterapéutica.

Al realizar una revisión de la literatura disponible, en la última década, se ha documentado como con la aplicación de la monitorización terapéutica en algunas poblaciones de pacientes con patologías o condiciones fisiológicas particulares, se ha logrado conseguir un beneficio relacionado a la optimización de la terapia antibiótica. Sin embargo, a la fecha, son muy pocos los estudios clínicos o metaanálisis donde el beneficio se haya medido objetivamente en términos de días de estancia, morbilidad y/o mortalidad.

A continuación, se evidenciarán algunos estudios clínicos en poblaciones particulares donde se haya estudiado la aplicación de la TDM en betalactámicos, midiendo posibles beneficios sobre la optimización de la terapia:

3.3.1 Pacientes con sepsis

En 2015, se demostró que, en pacientes con sepsis grave y choque séptico luego de la primera dosis de meropenem un 75% de los pacientes lograron alcanzar la concentración plasmática deseada en la fase temprana de la sepsis; en el caso de la ceftazidima solo un 28%, para cefepime un 16% y piperacilina-tazobactam un 44%, concluyendo que únicamente el meropenem tiene concentraciones aceptables, y las dosis empíricas que estaban siendo administradas para los otros tres antibióticos eran completamente insuficientes requiriendo ajustes de dosis (Taccone *et al*, 2010).

Aunque se demostró el meropenem alcanza fácilmente las concentraciones deseadas, en 2019 Meyer y colaboradores, evaluaron si la monitorización terapéutica del meropenem en pacientes críticamente enfermos con sepsis tendría algún beneficio, y los resultados demostraron una mejoría estadísticamente significativa en los porcentajes de mortalidad, en comparación con aquellos pacientes que no fueron monitoreados (Meyer *et al*, 2019).

3.3.2 Pacientes con terapia de remplazo renal o hemodiálisis (CRRT)

El uso de este tipo de terapia complica la optimización de la terapia farmacológica, ocasionando en la mayoría de los casos dosis subóptimas y por ello la TDM ha resultado de gran utilidad en estos pacientes (Roberts *et al*, 2014). Con el objetivo de encontrar una forma menos invasiva de monitorear a los pacientes, en comparación con la venopunción; en 2011 se validó el uso del efluente de la diálisis para realizar la TDM de piperacilina, esto al demostrar una buena correlación con los resultados obtenidos para muestras de plasma, demostrando un buen equilibrio entre ambas matrices (Connor *et al*, 2011).

Se realizó un estudio similar en 2016 en 10 pacientes con terapia de remplazo renal y recibiendo administración de imipenem. La TDM se realizó en muestras pareadas de plasma sanguíneo y el efluente de la terapia continua de remplazo renal, se tomaron muestras por ocho horas y se determinó la concentración del antibiótico por medio de HPLC-UV- RP. A partir del estudio se validó el efluente de la terapia de remplazo como una muestra válida para análisis de TDM y además se concluyó que esta metodología podría ser efectiva en otras drogas con baja o moderada unión a las proteínas del plasma; lo cual facilitaría el monitoreo terapéutico de rutina en pacientes críticamente enfermos (Wen *et al*, 2016).

3.3.3 Pacientes con Oxigenación extracorpórea por membrana (ECMO)

La TDM ha resultado el mejor mecanismo de optimizar las dosis en esta población, por ejemplo, en 2016, se llevó a cabo un estudio monitoreando meropenem en dos pacientes pediátricos con ECMO y enfermedad respiratoria severa ocasionada por una infección por *Klebsiella pneumoniae*; se obtuvieron resultados prometedores, pues basados en los resultados del monitoreo se cambió el esquema de dosificación y se logró alcanzar la concentración adecuada en menos de 24 horas (Di Nardo *et al*, 2016).

Otro estudio realizado en 2019 reveló al realizar TDM por medio de HPLC-MS en muestras de plasma de 44 pacientes, se logró determinar cuál es el betalactámico con mayor

dificultad para alcanzar el objetivo de farmacocinética en pacientes con ECMO: el imipenem (60% de pacientes no alcanzaron la dosis esperada), mientras que los betalactámicos que suelen tener mejor comportamiento fueron el cefotaxime y piperacilina (Bouglé *et al*, 2019).

En un estudio más reciente se llegó a la misma conclusión, pues realizando simulaciones con distintos esquemas de dosificación, se determinó que en pacientes con ECMO los niveles sanguíneos de imipenem son menores que en aquellos sin ECMO, debido posiblemente al aumento en el aclaramiento renal del fármaco y la utilización de CRRT, por lo cual las dosis debieron ser aumentadas. Al contrario, en pacientes con CL_{CR} of ≤ 70 ml/min las dosis debieron ser disminuidas cuidadosamente. Sin embargo, se concluyó que para lograr optimizar la dosificación para cada paciente críticamente enfermo se debe llevar a cabo la monitorización terapéutica individual (Chen *et al*, 2020).

3.3.4 Pacientes con Aclaramiento Renal aumentado (ARC)

Se estudió en el 2018 una población de pacientes con ARC y se demostró utilizando HPLC-UV, que el aclaramiento de la creatinina podría utilizarse para predecir las concentraciones alcanzadas de betalactámicos como cefepime, ceftazidima y meropenem, pero no para piperacilina. En el estudio se encontró que en la mayoría de los pacientes con ARC presentaban concentraciones insuficientes para tratar las bacteriemias por *Pseudomonas aeruginosa*, esto particularmente en aquellos con un CL_{Cr} de 180 ml/min (Jacobs *et al*, 2018). Además, los autores describen por primera vez una concentración insuficiente de cefepime, ceftazimina y piperacilina, mientras que en los pacientes en quienes se utilizó meropenem sí se alcanzaron las concentraciones deseadas. Se concluye que, en pacientes con ARC, si se confirma con más estudios, podría eventualmente ser recomendable como terapia de primera línea al meropenem, en lugar de la piperacilina.

3.3.5 Pacientes quemados

En 2012 se evaluó la utilidad del TDM en 50 pacientes quemados por medio de HPLC, donde se obtuvo que el 60% de ellos no alcanzaba el objetivo $fT > MIC$, y únicamente

el 18% alcanzó valores de fT mayores a 4 veces la MIC (Patel *et al*, 2012), revelando la necesidad de realizar TDM en estos pacientes de forma rutinaria. En un estudio similar realizado en pacientes quemados críticamente enfermos que recibieron carbapenémicos se llegó a las mismas conclusiones, pues se obtuvo que para el imipenem en un 47.8% de las ocasiones se tenían concentraciones insuficientes; mientras que para el meropenem en un 30.4% de las ocasiones se encontraban en niveles inapropiados, subóptimos o tóxicos (Fournier *et al*, 2015)

En 2017 se realizó un análisis retrospectivo en una UCI de pacientes quemados con el fin de demostrar la utilidad en la prognosis de la TDM: se agruparon a 77 pacientes, en el grupo de quienes recibieron un ajuste de dosis basado en TDM y a 63 pacientes en el grupo de quienes recibieron una terapia basada en dosis convencional. A partir de los resultados se pudo concluir que no hubo diferencia significativa en la prognosis, mejoría o mortalidad entre ambos grupos (Machado *et al*, 2017).

3.3.6 Pacientes obesos

A partir de un estudio realizado por Rich y colaboradores, se determinó por medio TDM por HPCL en los pacientes obesos no críticos, en quienes se utilizan antibióticos es recomendable modificar las dosis usuales, por ejemplo, para cefepime aconsejan aumentar la dosis a 2 g cada 8 horas, para lograr mantener un adecuado $fT > MIC$ (Rich *et al*, 2012).

En otro estudio realizado en ese mismo año, pero en una población en pacientes obesos críticamente enfermos, se recomendó realizar de rutina TDM, pues encontraron variaciones interindividuales muy importantes, que hacen compleja la optimización para cada paciente. Eso lo concluyeron al determinar los niveles sanguíneos por HPLC-UV de cefepime, piperacilina-tazobactam y meropenem, en 49 pacientes obesos críticamente enfermos y comparar con muestras de pacientes no obesos. Se obtuvo una variación significativa entre ambos grupos, con concentraciones de meropenem más bajas en los pacientes con obesidad. Además, demostró que, en los pacientes obesos, un tercio de ellos

tenían concentraciones insuficientes, un cuarto de ellos tenía concentraciones tóxicas, con CCRT como factor de riesgo para este último de los casos (Hites *et al*, 2012).

3.3.7 Pacientes neonatos

En 2019 se evaluó la utilidad de un método novedoso de HPLC en fase reversa, midiendo simultáneamente imipenem y meropenem; los resultados de TDM en neonatos y adultos mostraron una alta variabilidad inter e intraindividual en las concentraciones mínimas de imipenem y meropenem, confirmando la importancia y la necesidad de realizar el monitoreo. Particularmente para los pacientes neonatos, el 70.1 % de ellos tenía concentraciones inferiores al objetivo PK/PD. En el caso de pacientes tratados con imipenem en dosis de 40 mg/kg/día no se produjo el efecto terapéutico deseado, haciendo necesario hacer un ajuste a 60 mg/kg/día o más para alcanzar la concentración esperada. Después de realizar el ajuste de la dosis el 47.1 % de los neonatos lograron llegar al objetivo (Zou *et al*, 2019).

3.3.8 Pacientes hospitalizados

En un estudio realizado en 2018 por Wong y colaboradores, se realizó la TDM a una población de 330 pacientes, a quienes se les administraba ceftriaxona, cefazolina, meropenem, ampicilina, bencilpenicilina, flucloxacilina o piperacilina. A partir de los resultados del monitoreo realizado por el método de HPLC y ultracentrifugación, se decidió aumentar la dosis en la mayoría de los pacientes: en el 33.1 % de los casos se aumentó la dosis con el objetivo de alcanzar el 100% fT > MIC y en el 63.4 % se realizó con el fin de alcanzar el objetivo de 100% fT 4x.MIC. Por otro lado, se disminuyó la dosis en el 17.3 %, debido a que sobrepasaban el límite designado de 100% fT 10xMIC. Como parte de las conclusiones se determinó que los fármacos con mejor cumplimiento del objetivo PK/PD propuesto fueron la ceftriaxona y la bencilpenicilina, ambos antibióticos con las más altas capacidades de unión a proteínas (Wong, *et al*, 2018).

De Waele y colaboradores también demostraron en un estudio controlado aleatorio en pacientes críticos con función renal aparentemente normal que la terapia guiada por TDM de meropenem y piperacilina tazobactam permite alcanzar mejor los objetivos PK/PD en comparación con las terapias no guiadas (De Waele *et al*,2014). Se determinó que al realizar la TDM diariamente para ambos antibióticos, se alcanzaba el objetivo 100% $fT > MIC$ en un 95 % de las veces, en comparación con el 68% del grupo control. Mientras que al evaluar el cumplimiento del objetivo 100% de $fT > 4MIC$ se obtuvo un resultado satisfactorio en el 58 % en el grupo intervenido vs. un 16% en el grupo control. A partir de los resultados de los monitoreos realizados, en algunos pacientes fue necesario realizar incrementos en las dosis de hasta un 100% para permitir a los pacientes alcanzaran los objetivos (De Waele *et al*,2014).

A pesar que algunos estudios han demostrado que la TDM reduce la mortalidad de los pacientes (Meyer et al ,2019), en un meta análisis publicado en 2021, a partir de cinco estudios aleatorizados y de cohorte comparativos sobre la efectividad de la TDM para carbapenémicos como estrategia para reducir la resistencia antimicrobiana; se concluyó que, aun cuando el porcentaje de mortalidad fue menor (16.53% en el grupo monitorizado vs. 16% en el grupo control), la diferencia no era estadísticamente significativa; sin embargo, señalan que podría ser efecto de algunas inconsistencias metodológicas de los estudios seleccionados (Lechtig-Wasserman et al, 2021). Además, como parte de los resultados no se logró asociar la TDM con una disminución en los tiempos de estadía en la UCI ni en los parámetros de erradicación microbiológica, reacciones adversas ni readmisión hospitalaria.

En relación a los posibles beneficios de la TDM en algunos parámetros clínicos, la investigación realizada por Aldaz en 77 pacientes tratados con meropenem, de los cuales un 66% de ellos requirió un ajuste en su dosis; concluyó que en los pacientes intervenidos se manifestaba una reducción significativa en los niveles de procalcitonina: 93% en el grupo intervenido con TDM vs. 85% en el grupo control; sin embargo, no se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa en los porcentajes de mortalidad (Aldaz *et al*, 2021).

3.3.9 Pacientes ambulatorios

El uso de la TDM ha permitido demostrar el potencial de algunos antibióticos para utilizarse como terapia intravenosa de infusión prolongada de forma ambulatoria. La ampicilina, por ejemplo, por su corta vida media y su inestabilidad en solución, tradicionalmente se ha administrado de forma intravenosa en pacientes con infecciones por *Enterococcus* sp, debiendo ser hospitalizados durante todo el tratamiento. Realizando el monitoreo terapéutico en muestras de plasma sanguíneo, se demostró que sí se obtenían niveles adecuados del fármaco durante el tratamiento, y únicamente se requirieron pequeños ajustes de dosificación. Utilizar este esquema de tratamiento, permitiría evitar el uso innecesario de antibióticos de alto espectro y disminuir significativamente los días de internamiento de estos pacientes y por tanto disminuir también los costos económicos y los efectos adversos de la hospitalización (Parsonson, *et al*, 2020).

3.3.10 Bacterias multirresistentes (MDR)

Como se ha mencionado, la TDM ha demostrado ser esencial en el tratamiento de pacientes con aclaramiento renal aumentado y con terapia ECMO, pues permite guiar dosis de infusiones continuas de fármacos. Sin embargo, Libchen *et al* describen precisamente el caso de un paciente joven, que además de recibir una terapia tipo ECMO y presentar aclaramiento renal aumentado, presentaba una infección por *Acinetobacter baumannii* portador de una carbapenemasa tipo oxa-2 y exhibiendo altos niveles de MIC (Libchen *et al*, 2019). Al realizar la TDM fue posible alcanzar niveles suficientes de meropenem, que de otra forma hubiesen sido difícil de lograr adecuadamente, demostrando también que la TDM es útil en el tratamiento de microorganismos multirresistentes como el *A. baumannii*.

Stewart *et al*, también reportaron en 2015, la utilidad de la monitorización terapéutica de ertapenem para tratar un caso de osteomielitis cervical causada por un *Enterobacter* multirresistente, logrando la resolución exitosa del cuadro infeccioso (Stewart *et al* 2015).

Cuadro 5. Comparación resultados obtenidos en estudios que evaluaron los aportes de la TDM de betalactámicos en distintas poblaciones de pacientes.

Población	Autores	N	Antibiótico	Aporte de la monitorización
Sepsis	Taccone et al, 2010	80	Meropenem, cefepime, ceftazidima, piperacilina/tazobactam	Demostó concentraciones insuficientes cefepime (84 %), ceftazidima (72%) y piperacilina tazobactam (56%)
Sepsis críticamente enfermos	Meyer et al, 2019	101	Meropenem	Mejora porcentaje de mortalidad
ECMO	Di Nardo et al, 2016	2	Meropenem	Demostó ajuste de dosis exitoso
	Bouglé et al, 2019	44	Imipenem, cefotaxime, piperacilina	Demostó 60% concentraciones insuficientes imipenem
	Chen et al, 2020	247	Imipenem	Demostó concentraciones insuficientes o tóxicas
ARC	Jacobs et al, 2018	215	Meropenem, cefepime, ceftazidima, piperacilina	Demostó concentraciones insuficientes cefepime, ceftazidima y piperacilina
Quemados	Patel et al, 2012	50	Flucloxacilima, dicloxacilina, penicilina G, piperacilina, ampicilina, meropenem y ceftriaxona	Demostó 60% concentraciones insuficientes.
	Fournier et al, 2015	38	Imipenem y meropenem	Demostó 48% concentraciones insuficientes imipenem y 30% insuficiente o tóxico de meropenem
	Machado et al, 2017	140	Imipenem, meropenem y piperacilina	No hay diferencia significativa en la prognosis, mejoría o mortalidad
Obesos (no críticamente enfermos)	Rich et al, 2012	10	Cefepime	Demostó concentraciones insuficientes

Población	Autores	N	Antibiótico	Aporte de la monitorización
Obesos críticamente enfermos	Hites et al, 2012	49	Cefepime, piperacilina-tazobactam y meropenem	Demostró un tercio con concentraciones insuficientes y un cuarto con concentraciones tóxicas
Neonatos	Zou et al, 2019		Imipenem y meropenem	Demostró 70% concentraciones insuficientes
Hospitalizados críticamente enfermos	De Waele et al, 2014	41	Meropenem y piperacilina tazobactam	TDM diaria alcanzó objetivo PK/PD un 95% vrs 68% sin TDM
Hospitalizados	Wong, et al, 2018	330	Ceftriaxona, cefazolina, meropenem, ampicilina, bencilpenicilina, flucloxacilina o piperacilina	Demostró 33 % concentraciones insuficientes y 17,3 % concentraciones tóxicas
	Lechtig-Wasserman et al, 2021	448	No aplica (metaanálisis).	No hay diferencia significativa en la mortalidad, días de estancia, erradicación microbiológica, reacción adversa ni readmisión hospitalaria
	Aldaz et al, 2021	77	Meropenem	Demostró 66 % concentraciones insuficientes. No hay diferencia significativa en mortalidad. Sí hay disminución en niveles de procalcitonina en relación al grupo control.
Ambulatorios	Parsonson, et al, 2020	3	Ampicilina	Demostró concentraciones adecuadas
MDR	Libchen et al, 2019	1	Meropenem	Demostró ajuste de dosis exitoso
	Stewart et al 2015	1	Ertapenem	Demostró ajuste de dosis exitoso

Al evaluar las conclusiones de los ensayos antes mencionados, en los cuales se investigó la posibilidad de una mejoría en algunos parámetros clínicos de pacientes a quienes se les realizó monitorización de betalactámicos; se encontró en algunos pocos casos la presencia de concentraciones tóxicas; pero interesantemente en la mayoría de estas investigaciones clínicas, se pudo evidenciar que en una importante proporción de los pacientes, mantenía concentraciones sanguíneas sub óptimas del antibiótico prescrito (ver cuadro 7), es decir, concentraciones menores a las deseadas según los objetivos de pk/pd. Todo esto con muchas posibles consecuencias negativas en la resolución de la infección, además del posible aumento en la presión selectiva, que eventualmente aumentase la resistencia antimicrobiana.

Las investigaciones realizadas por los autores mencionados anteriormente, además de evidenciar problemas en la dosificación de los pacientes, también permitieron demostrar que, los ajustes en las prescripciones (dosis, vías de administración y frecuencia) fueron exitosos alcanzando las concentraciones sanguíneas deseadas, consiguiendo los objetivos PK/PD propuestos.

Al revisar las investigaciones que evaluaron los efectos de realizar la TDM sobre algunos parámetros clínicos como mortalidad, estancia hospitalaria, mejoría y prognosis; la mayoría de estas investigaciones, a pesar de demostrar la existencia de concentraciones sanguíneas deficientes, no lograron demostrar una mejoría en los parámetros clínicos ya mencionados en pacientes hospitalizados (Machado et al, 2017; Lechtig-Wasserman et al, 2021; Aldaz et al, 2021), con la excepción de un estudio que sí demostró mejoría en la mortalidad en pacientes críticamente enfermos con un proceso séptico (Meyer et al ,2019).

Finalmente, se debe mencionar que, al término de esta investigación, se encuentran en desarrollo dos estudios prospectivos multicéntricos. Uno es el estudio DOLPHIN, el cual se realiza en 450 pacientes de UCIs, y el estudio OPTIMAL TDM (Clinicaltrials.gov identificador, NCT03790631) que se realiza en 700 pacientes. Los resultados de ambas investigaciones aportarán información valiosa sobre posibles beneficios de la TDM con beta lactámicos (Abdulla, A *et al*, 2020)

3.3 Metodologías utilizadas internacionalmente para realizar la monitorización terapéutica de los betalactámicos

En un estudio realizado en Australia en el año 2020, se evaluó la disponibilidad de guías de monitoreo terapéutico para agentes antimicrobianos. Se determinó que un 26% de los hospitales no poseían ningún tipo de guía y en el grupo de los que sí poseen guías, las más comunes son para vancomicina (72%) y aminoglucósidos (65%). Finalmente se encontró que solo un 8% de los hospitales poseían guías para el monitoreo de betalactámico, dejando en evidencia el gran vacío de información y lineamientos para llevarlo adecuadamente (Imani *et al*, 2020). A continuación, se detallarán todos los aspectos metodológicos que deberían incluirse en una guía clínica para la monitorización terapéutica de betalactámicos.

3.3.1 Cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC)

Desde 1997, se han desarrollado innumerables estudios para la determinación de betalactámicos utilizando HPLC en distintas matrices, entre ellas fluidos biológicos, como el plasma sanguíneo. En su mayoría, estas metodologías utilizan diferentes procedimientos de preparación: precipitación, una extracción de fase líquida o sólida, seguida por cromatografía líquida (LC) acoplada generalmente a detección UV (Denooz & Charlier, 2008).

3.3.1.1 Cromatografía líquida de alto desempeño acoplada a detección UV (HPLC-UV)

En 2008, Denooz & Charlier proponen realizar la medición simultánea para cinco betalactámicos: cefepime, ceftazidima, cefuroxima, meropenem y piperacilina. El método demostró precisión, exactitud, especificidad y la suficiente sensibilidad para realizar el monitoreo de la terapia en pacientes infectados (Denooz & Charlier, 2008)

McWhinney y colaboradores desarrollaron en 2010 una modificación del método de HPLC-UV con el objetivo de medir 12 distintos betalactámicos: cuatro cefalosporinas (Ceftazidima, Ceftriaxona, Cefazolina y Cefalotina), dos carbapenems (Meropenem y Ertapenem), y seis penicilinas (Ampicilina, Bencilpenicilina, Flucloxacilina, Dicloxacilina,

Piperacilina y Ticarcilina). Para esta investigación, los clasificaron en tres grupos basados en su número isocrático. Detectaron una interferencia con amoxicilina y cefepime (Mc Whinney *et al*, 2010) Algunas de sus ventajas son acceder a gran cantidad de análisis con una sola plataforma, que describen los autores como de bajo costo y comúnmente utilizada, la preparación de la muestra es accesible económicamente y requiere un bajo volumen de plasma, aproximadamente 200 uL. El método se utilizó por 6 meses en un hospital con pacientes críticamente enfermos, ofreciendo los resultados en menos de 24 horas (Mc Whinney *et al*, 2010).

En 2011, se validó nuevamente el método de McWhinney para 12 beta lactámicos. El ensayo se realizó en tres grupos simultáneos, el grupo de las penicilinas: amoxicilina, cloxacilina, oxacilina, penicilina G, piperacilina y ticarcilina, las cefalosporinas: cefepime, cefotaxime, ceftazidima y ceftriaxona, y finalmente los carbapenems: imipenem y meropenem. El método resultó ser lo suficientemente rápido, robusto y específico para todas las drogas; con algunas ventajas: requiere una pequeña cantidad de muestra, permite la medición simultánea de varias drogas que son utilizadas en algunas ocasiones de forma conjunta y utiliza un solo protocolo de extracción rápido (Verdier, *et al*, 2011). Desde su validación, el método se realizó de forma rutinaria en el ámbito clínico.

Posteriormente, en 2016, Legrand y su equipo desarrollaron un método para determinación simultánea de 8 betalactámicos utilizando HPLC-UV ultra rápido. El método determinó la concentración de Amoxicilina, Cefazolina, Cefepime, Cefotaxime, Ceftazidima, Cloxacilina, Oxacilina y Piperacilina utilizando 100 µl de muestra sanguínea y precipitación de proteínas con acetonitrilo y ácido fórmico. Para la separación se utilizó una columna de pentafluorofenil, mejorando la separación de la amoxicilina y cefepime y fase móvil de acetonitrilo y ácido fosfórico, a diferencia de otros métodos que utilizaron buffer de fosfatos pH 2, logrando mantener más estable y constante la presión durante el gradiente (Legrand *et al*, 2016).

3.3.1.2 Cromatografía líquida de alto desempeño con fase reversa (HPLC-RP)

En 2018, se desarrolló un nuevo método utilizando fase reversa para HPLC sin realizar extracción al realizar la ultrafiltración del plasma y la medición del fármaco libre, que se comprobó es proporcional al total de droga, de esta manera es posible minimizar el tiempo de procesamiento y de análisis, así como una menor cantidad de materiales requeridos y disminución de los costos. Este método se validó para la determinación de piperacilina y tazobactam en pacientes de UCI, obteniendo resultados satisfactorios para realizar la monitorización terapéutica (Verhoven *et al*, 2018).

Luego, en 2019 se optimizó el método tradicional de HPLC para la determinación de imipenem y meropenem específicamente, mejorando la capacidad de separación. Se agregó agua y acetonitrilo para mejorar la separación y tiempos de retención, ya que, si los tiempos son menores a 5 minutos, las impurezas del plasma interfieren en los picos. Además, para mejorar la estabilidad, del imipenem y meropenem se agregó buffer MOPS obteniendo resultados favorables (Zoe *et al*, 2019). Los investigadores determinaron que por relación costo-efectividad y buena recuperación el mejor método de preparación de la muestra es la precipitación de proteínas, en comparación con extracción de fase sólida, o un dispositivo de filtro centrífuga. Para realizar la precipitación usaron acetonitrilo y diclorometano para concentrar las impurezas de la fase orgánica. El método demostró un bajo costo operacional y buena eficiencia de separación, podría implementarse en la rutina del monitoreo terapéutico de imipenem y meropenem.

3.3.2 Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS)

Paralelo al perfeccionamiento de las metodologías de HPLC con detección con luz UV, se desarrolló también, aunque en menor grado, la cromatografía líquida con detección por espectrometría. En 2013, Sime y su equipo de trabajo, utilizaron esta tecnología para determinar seis betalactámicos, con la ventaja de tiempos de análisis más cortos y en comparación con el HPLC, se logró una identificación definitiva y cuantitativa, aún con una

cromatografía de baja resolución; disminuyendo el riesgo de falsos positivos (Sime *et al*, 2014). Una limitante de este método fue la baja recuperación de ertapenem al realizar la extracción, sin embargo, los autores concluyeron que se compensa con una alta sensibilidad, precisión y exactitud. Este método fue utilizado en el ámbito clínico en la determinación de piperacilina y piperacilina/tazobactam, obteniendo resultados exitosos en el monitoreo diario de los pacientes estudiados. Una de sus desventajas es el alto costo del instrumento y los costos operacionales.

3.3.2.1 Cromatografía líquida ultra rápida de interacción hidrofílica acoplada a espectrometría de masas en tándem (HILIC- UPLC- MS/MS)

En 2017, se propone por primera vez la utilización de la cromatografía líquida con interacción hidrofílica, la cual se ha popularizado en los últimos años, con la ventaja única de la detección de compuestos muy polares e iónicos, pues logra retener compuestos que no logra la cromatografía de fase reversa, de esta manera, al combinarlo con un detector de espectrometría de masas, aumenta la cantidad de compuestos detectables (Alpert, 1990; Tang *et al*, 2015). El método demostró precisión y exactitud adecuada, con excepción del imipenem, además no se encontró ningún problema de arrastre (Abdulla, *et al*, 2017).

3.3.3 Otras metodologías

3.3.3.1 Biosensores

Un biosensor es un dispositivo autosuficiente capaz de proporcionar información analítica cuantitativa o semicuantitativa de un analito; al reconocerlo biológicamente en asociación con un elemento de transducción integrado. Son moléculas que reconocen naturalmente sustancias afines al analito, pueden ser enzimas, anticuerpos o ácidos nucleicos aptámeros. Algunas de sus ventajas son que amplían el conjunto de elementos sensores posibles, de esta forma cualquier blanco molecular de una droga es un posible biosensor. Además, estos biosensores permiten evaluar la contraparte fisiológica relevante, por ejemplo, una posible betalactamasa, permitiendo detectar la interferencia de matrices fisiológicas complejas y el mecanismo de acción (Soto *et al*, 2015)

En general, estos biosensores están compuestos por una parte sensora y una parte transductora, usando este sistema, se desarrolló un biosensor amperométrico para penicilina, basado en proteínas que compiten por su unión con una penicilina que es añadida en forma conjugada con peroxidasa, y esta reacción produce un cambio de potencial inversamente proporcional a la concentración de la penicilina (Conzuelo, *et al*, 2013).

Nuevas metodologías utilizan sistemas unitarios integrados, por ejemplo, existe un biosensor unitario para betalactámicos, el PenCP E166C, para el cual se sustituye la betalactamasa TEM-1 por el mutante E166C marcado con fluoresceína, el mismo interacciona con el sustrato, induciendo cambio de polaridad en el entorno y, por tanto, cambio de emisión del fluoróforo con un comportamiento tipo Boltzmann, que correlaciona con la concentración del antibiótico. (Wong *et al*, 2011).

Este biosensor fue probado por Soto y colaboradores en 2015 para medir meropenem, mostrando resultados altamente prometedores. Este método demostró resultados de alta velocidad, pues permitiría utilizar una placa 40 pocillos para analizar 40 muestras y una curva de calibración, simultáneamente y por duplicado. Además, se utilizó 10 μ L de muestra y se estimó una sensibilidad de 10 nM para meropenem, resultando idóneo para la realidad de un laboratorio clínico (Soto *et al*, 2015). La limitación de este método ocurre al utilizar otros antibióticos como tazonam o bencilpenicilina, pues la presencia de actividad betalactamasa residual en el biosensor produce un incremento de la fluorescencia a bajas concentraciones y una estabilidad de esta a altas concentraciones

3.3.3.2 Biosensor termal

Este método funciona al detectar el calor liberado en las reacciones enzimáticas, por ejemplo, una enzima como la betalactamasa al romper el anillo betalactámico. Este método fue utilizado por Chen para determinar penicilina V y ampicilina en sangre total y suero, con una gran ventaja: no requiere preparación previa de la muestra, reduciendo el tiempo para emitir el resultado. Su desventaja es que no puede ser utilizado para antibióticos formulados con un inhibidor de betalactamasa o aquellos que son resistentes por su naturaleza como el meropenem (Chen *et al*, 2013).

3.3.3.3 Espectrofluorimetría

Este método, poco utilizado hasta el momento, consiste en la detección de luz emitida por productos de degradación fluorescentes, los cuales se liberan al degradar un betalactámico por medio de un método ácido o alcalino. Algunas de sus desventajas son el complicado tratamiento de la muestra, que lo hace poco accesible para la TDM debido al tiempo requerido y los altos controles necesarios (Omar *et al*, 2013).

3.3.4 Consideraciones metodológicas al realizar TDM

a) Validación

Todas las técnicas disponibles para determinar betalactámicos en la actualidad, han sido desarrolladas por investigadores, con condiciones específicas y únicas para cada laboratorio, por lo cual resulta necesario validar su funcionamiento según parámetros establecidos en guías internacionales. Algunas de estas guías disponibles son las de la Food and Drug Administration (FDA), Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) o la del European Medicines Agency Committee (EMA). Todas ellas contemplan parámetros similares que garantizan la calidad de los resultados obtenidos, de forma que puedan ser utilizados para el diagnóstico clínico, dentro de un centro hospitalario. Cada laboratorio debe elegir la guía que le corresponda según su ubicación física/política o la que resulte más conveniente según el criterio del investigador.

En general las guías establecen que para lograr validar un método es necesario cumplir con los algunos parámetros, por ejemplo, cumplir con un coeficiente de variación máximo de 15% de para todos los niveles excepto para el límite inferior para el cual se permite un 20%. También es necesario un número suficiente de estándares para lograr definir la relación entre concentración y respuesta, generalmente se realiza una curva de calibración de seis estándares (CLSI, 2014; FDA, 2001; EMA, 2009)

b) Tipo de muestras

Las muestras utilizadas generalmente para realizar la monitorización terapéutica son plasma, suero o sangre total. Sin embargo, la gran mayoría de autores utilizan plasma heparinizado. Al respecto, un estudio realizado en 2019 determinó que no existía diferencia significativa en las concentraciones obtenidas de betalactámicos al utilizar plasma heparinizado o suero, demostrando que ambas muestras pudieran ser elegidas para realizar un TDM de rutina (Paal *et al*, 2019)

Al realizar mediciones de beta lactámicos, como el cefepime, para monitoreos terapéuticos, se ha demostrado que el utilizar muestras de sangre periférica o alternativamente muestras de sangre obtenidas del catéter de vía central, no representa ninguna diferencia estadísticamente significativa; y además no se ha encontrado arrastre del analito en las muestras obtenidas de la vía central. Sin embargo, es importante al evaluar la posibilidad de tomar las muestras de catéteres, que exista una estandarización de los volúmenes de purga y descarte al tomar la muestra, para evitar efectos de dilución del analito (Gijssen *et al*, 2020).

Actualmente, debido a la necesidad de validar todas las metodologías analíticas en cada laboratorio clínico o de investigación, en particular para LC-MS, resulta necesario utilizar gran cantidad de muestras de pacientes con concentraciones ya conocidas, que deben ser transportadas, refrigeradas, centrifugadas, lo que representa problemas logísticos y en muchos casos no refleja realmente la exposición del antibiótico en el tejido blanco. Debido a esto y la dificultad de transporte, han surgido nuevas opciones de muestras que se espera disminuyan costos, eviten la refrigeración o que incluso aporten más información sobre la exposición de los tejidos al medicamento. Algunas de estas nuevas muestras alternativas, son las obtenidas por técnicas de micromuestreo: gotas de sangre seca, micromuestreo capilar, gotas de plasma seca y, micromuestreo absorbivo volumétrico (Avataneo *et al*, 2018).

La determinación de analitos a partir de gota seca es un método de muestreo que consiste en la recolección de una gota de sangre en un papel filtro, a partir de una punción realizada con lanceta. Este es el método utilizado para la realización del tamizaje neonatal

para enfermedades metabólicas, pero se ha propuesto como método para realizar la TDM, porque presenta una ventaja muy grande, que es el pequeño volumen de sangre que se requiere para el análisis además de un transporte y almacenamiento poco complejo. Algunas de sus desventajas, es la variabilidad en el hematocrito, pues si es muy alto, podría llevar a una sobreestimación, y además en los compuestos que no penetran los eritrocitos, podría eventualmente afectar diluyendo la fracción de plasma en la sangre total (De Kesel *et al*, 2013).

Se ha propuesto también la utilización de otras matrices alternativas, tomando en consideración el sitio de infección, así se esperaría una determinación más representativa de la cantidad de droga real en el sitio blanco, algunas de estas muestras son: orina, líquido cefalorraquídeo, células mononucleares de sangre periférica, biopsia. Adicionalmente, otras matrices como saliva, pelo, sudor, lágrimas y leche materna se encuentran en investigación y deberán ser validadas para cada analito; sin embargo, suponen opciones interesantes, que incluso podrían tener potencial para automatizarse (Veringa, *et al*, 2016; Avataneo *et al*, 2018).

c) Selección del objetivo PK/PD

En 2014, se realizó un estudio internacional en nueve unidades de cuidado intensivo, con el objetivo de describir cómo utilizan los médicos la TDM al realizar prescripciones de antibióticos en pacientes internados. Basado en los resultados obtenidos, los autores proponen que para la determinación del objetivo PK/PD se considere los factores del paciente: proceso de la enfermedad, función orgánica, tipos de intervenciones realizadas, comorbilidades, y aunado a ello algunos factores del patógeno: cepa bacteriana, sitio de infección y susceptibilidad antibiótica (Wong *et al*, 2014).

Muchos autores recomiendan la utilización del objetivo PK/PD de $100\% T > MIC$, un objetivo considerado agresivo, pero en pacientes con sepsis se ha descrito que utilizar este valor de objetivo PK/PD se asocia a cura clínica significativamente mayor y un retraso en la emergencia de la resistencia antibiótica (McKinnon *et al*, 2008; Zou *et al*, 2019). Además,

se ha comprobado que, en pacientes con infecciones severas, la erradicación de las bacterias ocurre en un 97% con un $100\% T > MIC$, mientras que en valores menores a $100\% T > MIC$ erradica solo en un 44% la población (McKinnon, *et al*, 2008).

La selección del límite superior debe realizarse en base a la MIC del patógeno, considerando que la actividad máxima bactericida para betalactámicos ocurre a concentraciones de 5 o 4 veces la MIC (Craig, 1998). Algunos autores recomiendan que se utilice 10 veces el valor sobre la MIC (Verdier *et al*, 2011); sin embargo, se ha comprobado que mantener entre 4 y 6 veces la MIC para meropenem ha sido suficiente para predecir el éxito clínico (Li *et al*, 2007).

d) Rango de calibración (límites de cuantificación)

Un método óptimo para determinar betalactámicos en sangre debería tener un límite inferior, lo suficientemente bajo para cubrir el punto de corte de la MIC de las bacterias, esto es importante pues si se utiliza un método con un límite inferior muy alto, podría significar no detectar niveles bajos del antibiótico. Por otra parte, el límite superior en el rango de linealidad también debería ser lo suficientemente alto para cubrir las concentraciones esperadas en el rango de toxicidad (Carlier *et al*, 2015).

3.3.5 Comparación de métodos analíticos

Existen distintas metodologías descritas en la literatura para realizar la determinación de betalactámicos, entre ellas, la utilización de sensores, la cromatografía líquida de alto rendimiento y la cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. Todas las anteriores con distintas variaciones en sus procedimientos. De todas las anteriores, las más populares y las que han demostrado mejores rendimientos, sensibilidad, especificidad, precisión, exactitud, entre otros parámetros de calidad, así como resultados conformes en investigaciones desarrolladas en la cotidianeidad del laboratorio clínico en la monitorización terapéutica, son la HPLC-UV y la LC-MS/MS.

Un estudio realizado en 2019 por Paal y colaboradores comparó la utilización del LC-MS/MS y el HPCL-UV en la determinación de meropenem y piperacilina en pacientes críticamente enfermos, y concluyeron con su investigación que ambos resultados son comparables, incluso en los límites de decisión clínica. Además, los autores denotan que el HPLC-UV es una buena opción para cuantificar beta lactámicos en hospitales donde no existan personas entrenadas para operar un equipo de LC-MS/MS (Paal *et al*, 2019).

Cuadro 6. Comparación de metodologías analíticas validadas para la determinación de betalactámicos en sangre

Método	Analitos Beta lactámicos	Tipo/volumen de muestra (µl)	Precisión CV (%)	Límites de detección (µg/ml)	Duración (min)	Extracción	Estándar interno	Recuperación (%)	Referencia
HPLC-UV	12	Plasma (heparina) /100	7	1 -2	22	Precipitación proteínas	-	>90	Verdier et al, 2011
HPLC-UV	12	Plasma /200	<8	5-10	-	Precipitación proteínas	Cefotaxima y oxacilina	-	McWhinney et al, 2010
HPLC-UV	8	Plasma (heparina) /100	14,20	2	13	Precipitación proteínas	Tiopental	76,5-96,8	Legrand et al, 2008
HPLC-UV	5	Plasma (heparina) /500	12,20	0,5-1	30	SPE	Ceforanida	57,4-84,8	Denooz & Charlier,2008
RP-HPLC-UV	2	Plasma (EDTA)/200	<8	0,1	-	Precipitación proteínas	No utilizaron	>91.5	Zou et al,2019
RP-HPLC-UV	2	Plasma (heparina) /-	25	2.0	-	Ninguno	Penicilina	-	Verhoveva et al, 2018
LC-MS/MS	7	Plasma /300	5-14	0,1-0,25	7	Precipitación proteínas	Fluconazole	>96 (excepto ertapenem 78%)	Sime et al, 2013
LC-MS/MS	9	Plasma /50	2,5-16,5	0,05-0,75	5,2	Precipitación proteínas	Cefazolina	>88	Abdulla et al, 2017
LC-MS/MS	2	Plasma /50	14,74	1	7	LLE	Molécula etiquetada con isotopo	>85,3	Ferrari et al, 2018
LC-MS/MS	4	Plasma (heparina) /20-90	17,50	0,1-0,5	7	Precipitación proteínas	Molécula etiquetada con isotopo	>96,1	D'Cunha et al, 2018

Comparación LC-MS/MS *versus* HPLC

Se revisaron y compararon diez variaciones de ambos métodos para la determinación de betalactámicos (Cuadro 6), realizados a partir del año 2008 hasta la actualidad, aplicados en la monitorización terapéutica. En todos los métodos revisados se ejecutó la determinación simultánea, con un promedio de 6.3 analitos.

- Duración del ensayo

Idealmente un método óptimo para realizar la monitorización terapéutica debería tener un tiempo corto para emitir el resultado, que incluya el tiempo de preparación de la muestra y del análisis tanto de la muestra como de los calibradores y controles (Carlier *et al*, 2015). En los métodos estudiados el valor promedio se determinó en 21,6 min para HPLC (n=3) y 6,5 min para LC-MS/MS (n=4), un tiempo de análisis significativamente menor.

Los métodos de HPLC suelen requerir un tiempo superior, en gran parte destinado a la preparación de la muestra, que permite eliminar interferentes y concentrar la muestra, cuando es necesario. En general el tiempo total de análisis por cada muestra suele exceder los 10 min, pero al utilizar métodos como cromatografía líquida de ultra rendimiento se puede reducir a 2 minutos. (Veringa, *et al*. 2016). Una estrategia que permite esta reducción de tiempo es validar la utilización de curvas de calibración de dos puntos, reduciendo la cantidad de inyecciones, haciendo el método más eficiente.

- Preparación de la muestra

Para correr una muestra en un equipo analítico, es necesario preparar la muestra de sangre total. El objetivo de esta práctica es eliminar interferentes o en otros casos concentrar la muestra. Un método utilizado para este proceso es la precipitación de proteínas usando solventes orgánicos o utilizando extracción de fase sólida. De los diez métodos analizados, ocho de ellos utilizaron precipitación de proteínas con acetonitrilo, en uno de ellos se utilizó extracción de fase sólida (SPE) y en el restante extracción líquida-líquida (LLE).

Debido a la alta sensibilidad y especificidad del LC-MS/MS ha demostrado que otros métodos de extracción complejos como la SPE o LLE son innecesarios y se puede

prescindir de ellos. En su lugar, la aplicación de técnicas sencillas y rápidas como precipitación de proteínas o únicamente la dilución de la muestra, resultan adecuadas; sin embargo, algunos autores han descrito que esto podría causar problemas de interferencia endógena, por ejemplo, componentes como lípidos, fosfolípidos o ácidos grasos que no se remueven completamente causan la supresión de la ionización. Otros efectos causados por interferencia con la *matriz* ocurren al formarse compuestos quelados con iones férricos, lo cual puede ser resultado de agregar un estándar interno etiquetado, con el inconveniente de elevar los costos en gran medida (Veringa, *et al.* 2016).

Si no es posible eliminar el efecto de la supresión de la ionización, se debe realizar el SPE o LLE con el fin de eliminar casi por completo esos efectos; esto resulta conveniente en especial al determinar de forma simultánea varios analitos, sin embargo, un método de extracción con recuperación aceptable para múltiples analitos será menos selectivo que al validarse para un analito individual (Veringa, *et al.* 2016).

- Volumen de muestra

La muestra utilizada en todos los métodos fue el plasma sanguíneo, en su mayoría heparinizado. En general, los métodos de HPLC-UV requieren volúmenes mayores de muestra; entre los métodos comparados, en promedio se utilizan 220 uL (n=5), lo que podría significar una desventaja importante en el caso de neonatos o pacientes críticos, en quienes se dificulta la toma de muestra. Según los autores consultados, para la LC-MS/MS requieren 122 uL(n=4) en promedio, sin embargo, el equipo requiere únicamente 10 uL para la inyección, por lo que la cantidad de muestra colectada podría disminuirse, ya que perfectamente una gota podría ser suficiente.

- Estándar interno

En los métodos analíticos comparados, se encontró gran heterogeneidad en la elección del estándar: todos utilizaron uno distinto. En general, se recomienda utilizar análogos estructurales de los analitos para que tengan tiempos de elución similares y características de ionización comparables, con el fin de asegurar la calidad de los resultados. Sin embargo, debido a la dificultad para encontrar características de ionización compatibles,

se debe evaluar la supresión de la ionización tanto para la muestra como para el estándar interno, para de esta manera optimizar los tiempos de retención (Veringa, *et al.* 2016).

- Precisión y recuperación

Al evaluar cualitativamente los valores reportados de precisión, la mayoría de los métodos cumplen con coeficientes de variación dentro de los requerimientos de calidad para la validación: valores inferiores a 15% en general y 20% en el límite inferior de cuantificación.

Respecto a la recuperación después de aplicar los métodos de extracción, en general todos los métodos tienen buen rendimiento con porcentajes superiores a 85%, con la excepción de dos métodos de HPLC-UV donde utilizan método de extracción SPE. con valores bajos (hasta un 57.4%). Por ello lo recomendado es realizar la preparación de la muestra con precipitación de proteínas.

- Límite de cuantificación

Los métodos de LC-MS/MS poseen mejores niveles de detección, ya que entre los métodos comparados se obtuvo un promedio de 0.63 $\mu\text{g/ml}$ (n=4) para esta técnica y para HPCL-UV un promedio de 1.76 $\mu\text{g/ml}$ (n=6). Este comportamiento ha sido señalado previamente por autores, pues es una característica propia de la LC/MS, su alta sensibilidad y detección de concentraciones más pequeñas de analito.

- Costos

En general en los países de altos ingresos, en los últimos años, las metodologías basadas en LC-MS/MS han remplazado a las que se basaban en HPLC-UV. Sin embargo, el costo inicial de instalación del equipo es extremadamente alto y el costo de operación es moderado, además que son pocas las pruebas que han sido desarrolladas, en contraste con la demanda de analitos que deben ser monitoreados terapéuticamente en la realidad clínica (Veringa, *et al.* 2016).

Por otro lado, el HPLC-UV, posee un costo de instalación bajo y un costo de operación bajo, además que no requiere personal altamente entrenado como sí ocurre para el uso del LC-MS/MS.

Cuadro 7. Comparación métodos analíticos LC-MS/MS versus HPLC para la determinación de betalactámicos

Método	Volumen muestra	Preparación de la muestra	Duración ensayo	Interferencias	Precisión	Recuperación	Límite cuantificación	Costos
HPCL-UV	X	✓	X	✓	✓	✓	X	✓
LC-MS/MS	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X

Evaluando todas estas variables descritas (ver cuadro 7), el método de LC-MS/MS ha demostrado tener algunas características analíticas superiores al HPCL: requiere menor volumen de muestra, posee una menor complejidad en la preparación de la muestra, duración del ensayo más corto y límites de detección inferiores más bajos. Sin embargo, el alto costo de LC-MS/MS y la poca disponibilidad de equipos en Costa Rica hacen más práctica y viable la utilización del HPLC-UV, aportando resultados suficientemente precisos, con límite de detección suficiente y sin interferentes analíticos durante el ensayo.

Conclusiones

4.1. Conclusiones

- La dosificación de antibióticos es compleja debido a la fisiología dinámica, aumento de la resistencia antibiótica y características farmacocinéticas impredecibles, por ello la TDM posee un rol importante en la optimización del tratamiento.
- Los factores bacterianos que influyen la TDM de los betalactámicos son su fenotipo, capacidad de formar biopelículas e inóculo.
- Los factores farmacológicos que influyen la TDM de los betalactámicos son sus características de tiempo-dependencia, hidrosolubilidad, eliminación renal, unión a proteínas y PAE mínimo.
- Los factores fisiopatológicos que influyen la TDM de los betalactámicos son el aclaramiento renal aumentado, alteración del balance de fluidos, disfunción orgánica y alteraciones en la unión a proteínas.
- Realizar TDM de betalactámicos en pacientes con sepsis, quemados, obesos, neonatos, politraumatizados, pacientes críticamente enfermos y aquellos con terapia tipo ECMO o CCTR permite demostrar el adecuado cumplimiento de los objetivos pk/pd y realizar ajustes de dosis exitosos.
- La población de pacientes críticamente enfermos con procesos de sepsis ha demostrado una mejora en la mortalidad al realizar TDM de betalactámicos.
- Para desarrollar un método adecuado de TDM que funcione en la rutina de un centro hospitalario, este debe ser costo-efectivo, tener un tiempo respuesta razonablemente rápido, tener un límite superior e inferior suficiente y el método debe poder validarse según los estándares internacionales.
- La muestra más utilizada y representativa para determinar betalactámicos es plasma sanguíneo (heparina); sin embargo, la utilización de muestras alternativas como LCR podría reflejar mejor la acción bactericida en el sitio blanco.
- Los métodos más utilizados para determinar betalactámicos son: HPLC-UV y LC-MS/MS.

- A pesar de las ventajas en rapidez, pequeño volumen de muestra y bajos límites de detección de la LC-MS/MS, el HPLC-UV resulta la opción más viable en la realidad costarricense debido a la disposición de equipos y el costo económico para cada solicitud de análisis.

4.2. Limitaciones

La monitorización terapéutica de los betalactámicos no se realiza rutinariamente, por ello la cantidad de publicaciones al respecto es limitada. Aunado a esto, muchos autores no incluyen información sobre la validación de los métodos, si es que existe, por lo cual no se pueden tomar en cuenta para esta investigación, principalmente porque se perdería la estandarización de la muestra. Debido a lo anterior, al realizar la comparación de los métodos analíticos utilizando únicamente diez artículos, con dos metodologías que sí cumplían con los requisitos de selección, se dejó por fuera investigaciones que pudieron aportar información relevante.

Aspectos como la complejidad de la metodología, dificultades para el seguimiento paciente a paciente, entre otras, obstaculiza la generación de una base de datos, lo suficientemente robusta a partir de la cual puedan generarse estudios concluyentes acerca de los beneficios reales, de forma cuantitativa en términos de morbilidad y mortalidad, de la aplicación de la TDM en los sistemas de salud. Incluso autores relativamente recientes (5 años) hacen hincapié en este problema, y destacan la importancia de este seguimiento para valorar el impacto real de la aplicación de la TDM para la salud de las poblaciones.

La diversidad en el comportamiento de las poblaciones, en los patrones de administración de los sistemas de salud y hasta la cultura local de cada región o país, dificultan la existencia de una metodología estándar que sea no sólo eficaz y eficiente en la evaluación del impacto de la TDM sobre la salud, sino también que sea fidedigno a las particularidades de cada localidad y su población.

4.3. Recomendaciones

- Se recomienda que todo plan de implementación de TDM, sea planificado, ejecutado y evaluado por un equipo multidisciplinario, conformado al menos por un profesional farmacéutico, un profesional en infectología y personal de laboratorio clínico, que de forma conjunta y con conocimiento de la población y el sistema de salud, diseñen el programa de forma adecuada a las necesidades de los mismos, tomando en cuenta todos los puntos de vista de los distintos campos que participan en el tratamiento de los pacientes. Esto con el fin de que sean valorados los aspectos contemplados en la presente investigación y todos aquellos que los profesionales a cargo crean convenientes.
- Antes de comenzar la TDM, se recomienda definir el objetivo PK/PD. De acuerdo con los autores consultados, los límites más populares se encuentran entre 100% fT 10x MIC (superior) y 100% fT 4x MIC (inferior). Sin embargo, lo ideal es que estos límites sean personalizados para cada paciente.
- Además, se recomienda la implementación del método de HPLC-UV, con su respectivo proceso de validación según los estándares internacionales de la CLSI.
- Según lo analizado, las poblaciones hospitalarias más adecuadas para la aplicación de la TDM son: pacientes con sepsis, quemaduras, obesidad, múltiples traumas, neonatos, pacientes críticamente enfermos y con terapia tipo ECMO o CCTR., pero particularmente la población con quien debería iniciar son los pacientes críticamente enfermos con procesos de sepsis.
- Adicionalmente, se recomienda la utilización del plasma sanguíneo como tipo de muestra preferencial, sin embargo, en casos de meningitis, también se recomienda añadir una muestra de LCR con el fin de determinar la concentración real en el foco de la infección.

Referencias bibliográficas

- 1) Abdul-Aziz, M.H., Shetlar, K. & Roberts, J. A. (2019) Antimicrobial therapy during ECMO – customised dosing with therapeutic drug monitoring: The way to go?. *Anaesth Crit Care Pain Med*, 38 (5), 451-453.
- 2) Abdulla, A, Bahmany, S & Wijma, R. (2017). Simultaneous determination of nine β -lactam antibiotics in human plasma by an ultrafast hydrophilic-interaction chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*. 1060:138-143.
- 3) Abdulla, A., Ewoldt, T., Hunfeld, N., Muller, A. E., Rietdijk, W., Polinder, S., van Gelder, T., Endeman, H., & Koch, B. (2020). The effect of therapeutic drug monitoring of beta-lactam and fluoroquinolones on clinical outcome in critically ill patients: the DOLPHIN trial protocol of a multi-centre randomised controlled trial. *BMC infectious diseases*, 20(1), 57. <https://doi.org/10.1186/s12879-020-4781-x>
- 4) Aldaz, A., Idoate Grijalba, A. I., Ortega, A., Aquerreta, I., & Monedero, P. (2021). Effectiveness of Pharmacokinetic/Pharmacodynamic-Guided Meropenem Treatment in Critically Ill Patients: A Comparative Cohort Study. *Therapeutic drug monitoring*, 43(2), 256–263.
- 5) Alpert, A.J. (1990). Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds, *Journal of Chromatogr. A*, 499, 177–196.
- 6) Altenburg, J., de Graaff, C.S., van der Werf, T.S. & Boersma, W.G. (2011) Immunomodulatory effects of macrolide antibiotics – Part 2: advantages and disadvantages of long term, low-dose macrolide therapy. *Respiration*. 8175–8187.
- 7) Ambrose, P.G., Bhavnani, S.M., Rubino, C.M., Louie, A., Gumbo, T., Forrest, A. & Drusano, G.L. (2007). Pharmacokinetics-pharmacodynamics of antimicrobial therapy; It's not just for mice anymore. *Clinical Infectious Diseases*. 44, 79-86.
- 8) André P, Decosterd L, Bucli T, Rothuizen L. (2015). Therapeutic Drug Monitoring of antiepileptic drugs in the 21th Century. *Epileptologie.*; 32:78–84.
- 9) Arzuaga, A., Isla, A., Gascon, A.R., Maynar, J., Corral, E. & Pedraz, J.L. (2006) Elimination of piperacillin and tazobactam by renal replacement therapies with AN69 and polysulfone hemofilters: evaluation of the sieving coefficient. *Blood Purif*, 24: 347–354.

- 10) Avataneo, V., D'Avolio, A., Cusato, J., Cantú, M., & Nicolò, A.D. (2019). LC-MS application for therapeutic drug monitoring in alternative matrices. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 166, 40-51 .
- 11) Avent, M.L., Rogers, B.A., Cheng, A.C. & Paterson, D.L. (2011). Current use of aminoglycosides: indications, pharmacokinetics and monitoring for toxicity. *Internal Medicine Journal*. 41 (6), 441–449.
- 12) Bagheri-Nejad, S., Allegranzi, B., Syed, S.B., Ellis, B. & Pittet, D. (2011). Health-care-associated infection in Africa: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization*. 89(10), 757–765.
- 13) Bennett J.E., Dolin, R., & Blaser, M.J. (2015). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th Ed. Philadelphia: Saunders.
- 14) Blanchet, B., Jullien, V., Vinsonneau, C., Tod, M. (2008) Influence of burns on pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs used in the care of burn patients. *Clin Pharmacokinet*, 47:635.
- 15) Bougle, A., Dujardin, O., Lepère, v., Ait-Hamou, N., Vidal, C., Le breton, G., Salem, J. E., El-Helali, N., Petijean, G. & Amour, J. (2019) PHARMECMO: Therapeutic drug monitoring and adequacy of current dosing regimens of antibiotics in patients on Extracorporeal Life Support. *Anaesth Crit Care Pain Med*. URL <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2019.02.015>
- 16) Brauner, A., Fridman, O., Gefen, O. & Balaban, N. Q. (2016). Distinguishing between resistance, tolerance and persistence to antibiotic treatment. *Nat. Rev. Microbiol*. 14, 320–330.
- 17) British Society for Antimicrobial chemotherapy. (2018). *Antimicrobial Stewardship from Principles to Practice*. URL
- 18) Buynak JD (2006) Understanding the longevity of the b -lactam antibiotics and of antibiotic/ b -lactamase inhibitor combinations. *Biochemistry Pharmacology* 71:930–940
- 19) Champion, M. & , G. (2018). Antibiotic Use in the Intensive Care Unit: Optimization and De-Escalation. *Sage Journals* 33(12), 647-655.
- 20) Canturk, Z., Canturk, N.Z., Cetinarlan, B., Utkan, N.Z. & Tarkan, I. (2003) Nosocomial infections and obesity in surgical patients. *Obes Res*. 11:769–75.
- 21) Cassini, A., Plachouras, D., Eckmanns, T., Abu Sin, M., Blank, H.P., Ducomble, T., Haller, S., Harder, T., Klingeberg, A., Sixtensson, M., Velasco, E., Weiß, B., Kramarz, P., Monnet, D.L., Kretzschmar, M.E. & Suetens, C. (2016). Burden of Six Healthcare-Associated Infections on European Population Health: Estimating Incidence-Based Disability-Adjusted Life Years through a Population Prevalence-Based Modelling Study. *PLoS Medicine*. 13(10).

- 22) Castanheira, M., Costello, A. J., Deshpande, L.M. & Jones, R.N. (2012). Expansion of Clonal Complex 258 KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Latin American Hospitals: Report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 56 (3), 1668-1669.
- 23) Castanheira, M., Mendes, R.E., Woosley, L.N. & Jones, R.N. (2011). Trends in carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. from Europe and the Americas: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Programme (2007–09). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 66, 1409–1411
- 24) Center for Disease Control and Prevention. (2013). Healthcare-associated infections (HAIs): *Clostridium difficile* infection. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC, URL https://www.cdc.gov/hai/organisms/cdiff/cdiff_infect.html
- 25) Center for Disease Control and Prevention. (2014). Core Elements of Hospital Antibiotic Stewardship Programs. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC. URL <http://www.cdc.gov/getsmart/healthcare/implementation/core-elements.html>.
- 26) Centers for Disease Control and Prevention. (2013). Antibiotic resistance threats in the United States. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC. URL <https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>
- 27) Chen, Q., Andersson, A., Mecklenburg, M. & Xie, B. (2013) Fast determination of antibiotics in whole blood. *Clin Microbiol Infect* 19:869–74.
- 28) Chen, W., Zhang, D., Lian, W., Wang, X., Du, W., Zhang, Z., Guo, D., Zhang, X., Zhan, Q., & Li, P. (2020). Imipenem Population Pharmacokinetics: Therapeutic Drug Monitoring Data Collected in Critically Ill Patients with or without Extracorporeal Membrane Oxygenation. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(6), e00385-20.
- 29) Cheng, V., Abdul-Aziz, M.H., Roberts, J.A. & Shekar, K. (2019) Overcoming barriers to optimal drug dosing during ECMO in critically ill adult patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 15(2):103–12.
- 30) Choi, G., Gomersall, C.D., Tian, Q., Joynt, G.M., Freebairn, R. & Lipman, J. (2009) Principles of antibacterial dosing in continuous renal replacement therapy. *Crit Care Med* 37:2268–2282.
- 31) Clinical and Laboratory Standards Institute. (2014) C62-A Liquid chromatography-mass spectrometry methods; approved guideline.
- 32) Comité de antimicrobianos PROA y Resistencia. (2016). Guía para la implementación de un programa de optimización de antimicrobianos (PROA) a nivel hospitalario. Asociación

- Panamericana de Infectología. URL http://www.apinfectologia.com/sdm_downloads/guia-para-la-implementation-del-proa-a-nivel-hospitalario/
- 33) Conzuelo, F., Gamella, M., Campuzano, S., Martínez-Ruiz, P., Esteban-Torres, M., de las Rivas, B., Reviejo, A.J., Muñoz, R. & Pingarrón, J.M. (2013) Integrated amperometric affinity biosensors using Co²⁺-tetradentate nitrilotriacetic acid modified disposable carbon electrodes: application to the determination of β -lactam antibiotics. *Anal Chem* 85 (6): 3246-54.
 - 34) Craig WA. (1998). Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis.* 26:1-10.
 - 35) Craig, W.A. (1998) Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis*, 26:1–10.
 - 36) Craig, W.A. Post-antibiotic effects in experimental infection models: relationship to in-vitro phenomena and to treatment of infections in man. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 31 (D), 149-158
 - 37) Danasekaran, R., Mani, G. & Annadurai, K. (2014). Prevention of healthcare-associated infections: protecting patients, saving lives. *International Journal Community Medicine and Public Health.* 1(1), 67–68.
 - 38) D'Cunha, R., Bach, T., Young, B.A., Li, P., Nalbant, D., Zhang, J., Winokur, P. & An, G. (2018) Quantification of cefepime, meropenem, piperacillin, and tazobactam in human plasma using a sensitive and robust liquid chromatography-tandem mass spectrometry method, part 1: assay development and validation. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e00859-18
 - 39) De Kesel, PM., Sadones, N., Capiiau, S., Lambert, WE. & Stove, CP. (2013) Hemato-critical issues in quantitative analysis of dried blood spots: challenges and solutions. *Bioanalysis* 5, 2023–41.
 - 40) De Waele, JJ., Carrette, S., Carlier, M., Stove, V., Boelens, J., Claeys, G., Leroux- Roels, I., Hoste, E., Depuydt, P., Decruyenaere, J. & Verstraete, AG. (2014). Therapeutic drug monitoring-based dose optimisation of piperacillin and meropenem: a randomised controlled trial. *Intensive Care Med* 40, 380–387.
 - 41) Dellit, T.H., Owens, R.C., McGowan, J.E., Gerding, D.N., Weinstein, R.A., Burke, J. P., Huskins, W.C., Paterson, D.L., Fishman, N.O., Carpenter, C.F., Brennan, P.J., Billeter, Me & Hooton, T. (2007). Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship, *Clinical Infectious Diseases.* 44,159-177-

- 42) Denooz, R & Charlier, C. (2008) Simultaneous determination of five beta-lactam antibiotics (cefepim, ceftazidim, cefuroxim, meropenem and piperacillin) in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 15, 864(1-2), 161-7.
- 43) Di Nardo, M., Cairoli, S., Goffredo, BM., Stoppa, F., D'Argenio, P., Corsetti, T. (2016). Therapeutic drug monitoring for meropenem after the extracorporeal membrane oxygenation circuit change in children: is it necessary? *Minerva Anestesiol*; 82(9), 1018–9.
- 44) Drusano, G.L. (2004). Antimicrobial pharmacodynamics: critical interactions of “bud and drug”. *Nature Reviews Microbiology.* 2, 289-300.
- 45) Dubee, V., Zeller, V., Lhotellier, L., Kitzis, M.D., Ziza, J.M., Mamoudy, P. & Desplaces, N. (2013). Continuous high-dose vancomycin combination therapy for methicillin-resistant staphylococcal prosthetic hip infection: a prospective cohort study. *Clinical Microbiology and Infection.* 19, E98–E105.
- 46) Escobar, L. (2016). Monitorización terapéutica de fármacos y aspectos prácticos de farmacocinética. *Revista médica clínica Las Condes* 27(5) 605-614]
- 47) European Centre for Disease Prevention and Control. (2013). Point prevalence survey of healthcare associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals. URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6247463/&ved=2ahUKEwji-bqgvKv1AhXtuFkKHXTaANQQFjAGegQIAxAB&usg=AOvVaw27rZUNuCYEbnWuq6gMEyje&cshid=1571596300196>
- 48) European Medicines Agency Committee for Medicinal Products for Human Use (2011) Guideline on bioanalytical validation (EMEA/CHMP/EWP/192217/2009) URL https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-bioanalytical-method-validation_en.pdf
- 49) Falagas, M.E. & Kasiakou, S.K. (2006) Toxicity of polymyxins: a systematic review of the evidence from old and recent studies. *Critical Care* 10 (R27).
- 50) FDA. Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation. (2001).
- 51) Ferran A., Dupouy V., Toutain P. L., Bousquet-Melou A. (2007). Influence of inoculum size on the selection of resistant mutants of *Escherichia coli* in relation to mutant prevention concentrations of marbofloxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51, 4163–4166
- 52) Ferrari, D., Ripa, M., Premaschi, S., Banfi, G., Castagna, A. & Locatelli, M. (2019) LC-MS/MS method for simultaneous determination of linezolid, meropenem, piperacillin and teicoplanin in human plasma samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 169, 11–18

- 53) Finfer, S., Bellomo, R., McEvoy, S., Lo, SK., Myburgh, J., Neal, B. & Norton, R. (2006). Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study. *BMJ*, 333, 1044.
- 54) Fitzwater, J., Purdue, G., Hunt, J. (2003). The risk factors and time course of sepsis and organ dysfunction after burn trauma. *J Trauma*, 54, 959–966.
- 55) Florey, H. W., Chain, E. B., Heatley, N.G., Jennings, M.A., Sanders, A.G., Abraham, E.P. & Florey, M. E. (1949). *Antibiotics*. Oxford University Press, London, 2, 631–671
- 56) Food and Drug Administration US Department of Health (2001) Guidance for industry, bioanalytical method validation URL, <https://www.fda.gov/files/drugs/published/Bioanalytical-Method-Validation-Guidance-for-Industry.pdf>
- 57) Fossieck, B. & Parker, R.H. Neurotoxicity during intravenous infusion of penicillin. A review. (1974) *Journal of Clinical Pharmacology*. 14 (10) , 504–512.
- 58) Fournier, A., Eggimann, P., Pagani, J.A., Revelly, J., Decosterd, L.A., Marchetti, O., Pannatier, A., Voirol, P., & Que, Y.A. (2015). Impact of the introduction of real-time therapeutic drug monitoring on empirical doses of carbapenems in critically ill burn patients. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 41 5, 956-68 .
- 59) Fraser, JF., Shekar, K., Diab, S., Dunster, K., Foley, SR., McDonald, CI. (2012). ECMO—the clinician’s view. *ISBT Sci Ser*;7(1), 82–8.
- 60) Galdiero, E., Lombardi, L., Falanga, A., Libralato G., Guida , M., & Carotenuto, R. (2019) . Biofilms: Novel strategies base don antimicrobial peptides. *Pharmaceutics* 2019, 11(7), 322
- 61) Gijzen, M., Maertens, J., Lagrou, K., Peetermans, W. E., Fage, D., Debaveye, Y., & Spriet, I. (2020). Cefepime therapeutic drug monitoring: Evaluation of agreement between peripheral and central venous blood sampling. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 510, 450–454.
- 62) Goncalves-Pereira, J. & Pova, P. (2011). Antibiotics in critically ill patients: a systematic review of the pharmacokinetics of beta-lactams. *Crit Care*;15, R206.
- 63) Goodman, J. J., & Martin, S. I. (2012). Critical appraisal of ceftaroline in the management of community-acquired bacterial pneumonia and skin infections. *Therapeutics and clinical risk management*, 8, 149–156.
- 64) Gorkiewicz, G. (2009). Nosocomial and antibiotic-associated diarrhoea caused by organisms other than *Clostridium difficile*. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 33 (1), S37-S41.

- 65) Hecker, M.T., Aron, D.C., Patel, N.P., Lehmann, M.K. & Donskey, C.J. (2003). Unnecessary use of antimicrobials in hospitalized patients: current patterns of misuse with an emphasis on the antianaerobic spectrum of activity. *Archives of Internal Medicine*. 163, 972- 978.
- 66) Illamola, S.M., Hirt, D., Treluyer, J.M. Urien, S.& Benaboud, S. (2015) Challenges regarding analysis of unbound fraction of highly bound protein antiretroviral drugs in several biological matrices: lack of harmonization and guidelines, *Drug Discov.Today* 20, 466–474.
- 67) Imani, S., Alffenaar, J. W., Cotta, M. O., Daveson, K., van Hal, S., Lau, C., Marriott, D., Penm, J., Roberts, J. A., Tabah, A., Trethewy, N., Williams, P., & Sandaradura, I. (2020). Therapeutic drug monitoring of commonly used anti-infective agents: A nationwide cross-sectional survey of Australian hospital practices. *International journal of antimicrobial agents*, 56(6), 106180.
- 68) Jacobs, A., Taccone, F. S., Roberts, J. A., Jacobs, F., Cotton, F., Wolff, F., Hites, M. (2018). β -Lactam Dosage Regimens in Septic Patients with Augmented Renal Clearance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(9), e02534-17.
- 69) Johnson, N., Hayes, L., Brown, K., Hoo, E., & Ethier, K. (2014). CDC National Health Report: Leading Causes of Morbidity and Mortality and Associated Behavioral Risk and Protective Factors—United States, 2005–2013. URL <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/su6304a2.htm>
- 70) Kahlmeter, G. (2017) Committee ES. EUCAST proposes to change the definition and usefulness of the susceptibility category 'Intermediate'. *Clin Microbiol Infect*. 23, 894–5.
- 71) Kaki, R., Elligsen, M., Walker, S., Simor, A., Palmay, L. & Paneman, N. (2011). Impact of antimicrobial stewardship in critical care: a systematic review. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 66, 1223–1230.
- 72) Khan, H.A., Baig, F.K. & Mehboobl, R. (2017). Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 7(5), 478–482.
- 73) Kolditz, M., Tesch, F., Mocke, L., Höffken, G., Ewig, S. & Schmitt, J. (2016). Burden and risk factors of ambulatory or hospitalized CAP: A population-based cohort study. *Respiratory Medicine*. 121,32-38.
- 74) Lechtig-Wasserman, S., Liebisch-Rey, H., Diaz-Pinilla, N., Blanco, J., Fuentes-Barreiro, Y. V., & Bustos, R. H. (2021). Carbapenem Therapeutic Drug Monitoring in Critically Ill Adult Patients and Clinical Outcomes: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 10(2), 177.

- 75) Legrand, T., Vodovar, D., Tournier, N., Khoudour, N., & Hulin, A. (2016). Simultaneous Determination of Eight β -Lactam Antibiotics, Amoxicillin, Cefazolin, Cefepime, Cefotaxime, Ceftazidime, Cloxacillin, Oxacillin, and Piperacillin, in Human Plasma by Using Ultra-High-Performance Liquid Chromatography with Ultraviolet Detection. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(8), 4734–4742.
- 76) Lessa, F.C., Mu, Y., Bamberg, W.M., Beldavs, Z.G., Dumyati, G.K., Dunn, J.R., Farley, M.M., Holzbauer, S.M., Meek, J.I., Phipps, E.C., Wilson, L.E., Winston, L.G., Cohen, J.A., Limbago, B.M., Fridkin, S.K., Gerding, D.N. & McDonald, L.C.(2015). Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *The New England Journal of Medicine*. 372(9), 825-34.
- 77) Lewis K. (2007). Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat. Rev. Microbiol.* 5, 48–56.
- 78) Li, C., Du, X., Kuti J.L. & Nicolau, D.P. (2007). Clinical pharmacodynamics of meropenem in patients with lower respiratory tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 51, 1725–1730.
- 79) Li, J., Xie, S., Ahmed, S., Wang, F., Gu, Y., Zhang, C. & Cheng, G. (2017). Antimicrobial Activity and Resistance: Influencing Factors. *Frontiers in pharmacology*, 8, 364.
- 80) Liebchen, U., Paal, M., Jung, J., Schroeder, I., Frey, L., Zoller, M., & Scharf, C. (2019). Therapeutic drug monitoring-guided high dose meropenem therapy of a multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* - A case report. *Respiratory medicine case reports*, 29, 100966.
- 81) Ling, M.L., Apisarnthanarak, A. & Madriaga, G. (2015). The Burden of Healthcare-Associated Infections in Southeast Asia: A Systematic Literature Review and Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases*. 60(11), 1690-9.
- 82) Machado, A., Oliveira, M., Sanches, C., Silva Junior, C., Gomez, D., & Gemperli, R. et al. (2017). Clinical Outcome and Antimicrobial Therapeutic Drug Monitoring for the Treatment of Infections in Acute Burn Patients. *Clinical Therapeutics*, 39(8), 1649-1657.e3. doi: 10.1016/j.clinthera.2017.06.008
- 83) Macia, M., Rojo-Molinero, E., & Oliver, A. (2014). Antimicrobial susceptibility testing in biofilm-growing bacteria. *Clinical Microbiology And Infection*, 20(10), 981-990. doi: 10.1111/1469-0691.12651
- 84) Magill, S., Edwards, J., Bamberg, W., Beldavs, Z., Dumyati, G., Kainer, M., Lynnfield, R., Maloney, M., McAllister-Hollod, L., Nadle, J., Ray, S., Thompson, D., Wilson, L. & Fridkin, S. (2014). Multistate Point-Prevalence Survey of Health Care–Associated Infections for the Emerging Infections Program Healthcare-Associated Infections and Antimicrobial Use Prevalence Survey Team. *The New England Journal of Medicine*. 370, 1198-1208.

- 85) Martin, S.J. & Yost, R.J. (2011). Infectious diseases in the critically ill patients. *Journal of Pharmacy Practice*. 24 (1), 35-43.
- 86) McKinnon, P.S., Paladino, J.A & Schentag, J.J. (2008). Evaluation of area under the inhibitory curve (AUC) and time above the minimum inhibitory concentration (T.MIC) as predictors of outcome for cefepime and ceftazidime in serious bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents*; 31, 345–51.
- 87) McWhinney, B. C., Wallis SC., Hillister T, Roberts JA, Lipman J, & Ungerer JP. (2010). Analysis of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by HPLC with UV detection. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 878, 2039–2043.
- 88) Meyer B., Tröger U., Lohmeier S., Bode-Böger S., Hansen M., Schmeißer A., Braun-Dullaeus R., Tanev I. (2019). Benefit of meropenem therapeutic drug monitoring in critically ill patients with sepsis. *Intensive Care Med. Exp.* 7: 342–343.
- 89) Meyer, E., Schwab, F., Gastmeier, P., Rueden, H. & Daschner, F.D. (2006) Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in German intensive care units (SARI): a summary of the data from 2001 through 2004. *Infection*. 34, 303–309.
- 90) Mohd-Hafiz, A.-A., Staatz, C.E., Kirkpatrick, C.M.J., Lipman, J. & Roberts, J.A. (2012). Continuous infusion vs. bolus dosing: implications for beta-lactam antibiotics. *Minerva Anesthesiology*. 78(1), 94-104.
- 91) Morales, J. (2015). Therapeutic Drug Monitoring of Beta-Lactam Antibiotics: Does it Lead to “Beta” Outcomes? University of Texas Health Science Center San Antonio.
- 92) Morejón, M. (2013). Betalactamasas de espectro extendido. *Revista Cubana de Medicina*, 52 (4). 272-280.
- 93) Morrill, H. J., Pogue, J. M., Kaye, K. S., & LaPlante, K. L. (2015). Treatment Options for Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infections. *Open forum infectious diseases*, 2(2), ofv050.
- 94) Mouton, J.W., Ambrose, P.G., Canton, R., Drusano, G.L., Harbarth, S., MacGowan, A. (2011) Conserving antibiotics for the future: new ways to use old and new drugs from a pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective, *Drug Resist. Updat.*, 14 107–117.
- 95) Mouton, JW., Dudley, MN., Cars, O., Derendorf, H. & Drusano, GL. (2002) Standardization of pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) terminology for anti-infective drugs. *Int J Antimicrob Agents*, 19, 355–8.
- 96) Mouton, JW., Muller, AE., Canton, R., Giske, CG., Kahlmeter, G. & Turnidge J. (2018). MIC-based dose adjustment: facts and fables. *J Antimicrob Chemother*, 73 (3)564-568.

- 97) Müller, D.M., & Rentsch, K.M. (2010). Therapeutic drug monitoring by LC–MS–MS with special focus on anti-infective drugs. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398, 2573-2594.
- 98) Norrby, S.R. (1996) Neurotoxicity of carbapenem antibacterials, *Drug Safety*. 15 (2), 87–90.
- 99) Norrby, S.R. (1987) Side effects of cephalosporins. *Drugs*. 34 (2), 105–120.
- 100) Nuvials, X., Palomar, M., Alvarez-Lerma, F., Olachea, P., Otero. S., Uriona, S., Catalán, M., Gimeno, R., Gracia, M.P. & Seijas, I. (2015). Health-care associated infections. Patient characteristics and influence on the clinical outcome of patients admitted to ICU. Envin-Helics registry data. *Intensive Care Medicine Experimental*, 3(1): A82.
- 101) Omar, MA., Abdelmageed, OH. & Attia, TZ. (2009). Kinetic spectrofluorimetric determination of certain cephalosporins in human plasma. *Talanta*, 77, 1394–404.
- 102) Onufrak, NJ., Forrest, A. & Gonzalez, D. (2016). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Principles of Anti-infective Dosing. *Clinical Therapeutics*. 38 (9).
- 103) Organización panamericana de la salud (2012). Vigilancia epidemiológica de las infecciones asociadas a la atención de la salud. Módulo III: información para gerentes y personal directivo. URL: <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/3270>
- 104) Owens, R.C., Donskey, C.J., Gaynes, R.P., Loo, V.G. & Muto, C.A., Antimicrobial-Associated Risk Factors for *Clostridium difficile* Infection, *Clinical Infectious Diseases*. 46, (1), S19–S31.
- 105) Paal, M., Heilmann, M., Koch, S., Bertsch, T., Steinmann, J., & Höhl, R. et al. (2019). Comparative LC-MS/MS and HPLC-UV Analyses of Meropenem and Piperacillin in Critically Ill Patients. *Clinical Laboratory*, 65(09/2019). doi: 10.7754/clin.lab.2019.190210
- 106) Page, M.G.P. (2012) Beta-Lactam Antibiotics. Pucci, T. Antibiotic Discovery and Development. Springer, Boston, MA.
- 107) Papatheodorou,P., Barth, H., Minton, N. & Aktories, K. (2018). Cellular Uptake and Mode-of-Action of Clostridium difficile Toxins. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 8, 77-96.
- 108) Parsonson, F., Legg, A., Halford, M., & McCarthy, K. (2020). Contemporaneous management of ampicillin infusions in the outpatient setting through the use of therapeutic drug monitoring. *International journal of antimicrobial agents*, 55(6), 105975.
- 109) Patel, B. M., Paratz, J., See, N. C., Muller, M. J., Rudd, M., Paterson, D., Briscoe, S. E., Ungerer, J., McWhinney, B. C., Lipman, J., & Roberts, J. A. (2012). Therapeutic drug monitoring of beta-lactam antibiotics in burns patients--a one-year prospective study. *Therapeutic drug monitoring*, 34(2), 160–164.

- 110) Patel, K. & Kirkpatrick, C.M. (2018). Udy, A. Roberts, J, Lipman, J. Antibiotic Pharmacokinetic / Pharmacodynamic Considerations in the Critically Ill. Singapore: Springer
- 111) Peters FT, Drummer OH, Musshoff F. (2007). Validation of new methods. *Forensic Sci Int.*;165(2-3):216–24.
- 112) Pevzner, L., Swank, M., Krepel, C., Wing, DA., Chan, K. & Edmiston, CE, Jr. (2011). Effects of maternal obesity on tissue concentrations of prophylactic cefazolin during cesarean delivery. *Obstet. Gynecol*, 117, 877– 882.
- 113) Pieracci, FM., Barie, PS. & Pomp, A. (2006). Critical care of the bariatric patient. *Crit Care Med*, 34, 1796–804.
- 114) Revelas, A. (2012). Healthcare - associated infections: A public health problem. *Journal of Nigeria Medical Association*, 53(2), 59-64.
- 115) Rhodes, A., Evans, L.E., Alhazzani, W. Et al. (2017) Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Medicine*, 43: 304.
- 116) Rich, B.S., Keel, R.A., Ho, V.P., Turbendian, H.K., Afaneh, C., Dakin, G.F., Pomp, A., Nicolau, D.P., & Barie, P.S. (2012). Cefepime Dosing in the Morbidly Obese Patient Population. *Obesity Surgery*, 22, 465-471.
- 117) Roberts, J.A., Abdul-Aziz, M.H., Lipman, J., Mouton, J.W., Vinks, A.A., Felton, T.W. (2014). Individualized antibiotic dosing for patients who are critically ill: challenges and potential solutions, *Lancet Infect Dis*, 14 (6), 498-509.
- 118) Roberts, J.A., Kruger, P., Paterson, D.L. & Lipman, J. (2008). Antibiotic resistance—what’s dosing got to do with it? *Critical Care Medicine*. 36(8):2433–2440.
- 119) Roberts, J.A., Paul, S.K., Akova, M., Bassetti, M., De Waele, J.J., Dimopoulos, G., et al. (2014) DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current beta-lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? *Clinical Infectious Disease*, 58(8):1072–83.
- 120) Roberts, JA. & Lipman, J (2009) Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med*, 37(3),840–851.
- 121) Roberts, JA. & Roberts, DM. (2014). Antibiotic dosing in critically ill patients with septic shock and on continuous renal replacement therapy: can we resolve this problem with pharmacokinetic studies and dosing guidelines. *Critical care*, 18(3), 156.
- 122) Robertson L. & Al-Haddad,M. (2013). Recognizing the critically ill patient. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine.*), 11-14.

- 123) Rupnik, M., Wilcox, M.H. & Gerding, D.N. (2009). Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*. 7(7), 526-36.
- 124) Rybak, M.J., Lomaestro, B.M., Rotschafer, J.C., Moellering, R.C., Craig, W.A., Billeter, M., Daloisio, J.R. & Levine, D.P. (2009). Therapeutic monitoring of vancomycin in adults, summary of consensus recommendations from the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Pharmacotherapy*. 29 (11), 1275–1279.
- 125) Salazar, DE. & Corcoran, GB. (1988). Predicting creatinine clearance and renal drug clearance in obese patients from estimated fat-free body mass. *Am J Med*, 84, 1053–60.
- 126) Scaglione, F. (2010). Pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) considerations in the management of Gram-positive bacteremia. *Int J Antimicrob Agents*, 36, 33.
- 127) Schmier, J. K., Hulme-Lowe, C. K., Semenova, S., Klenk, J. A., DeLeo, P. C., Sedlak, R., & Carlson, P. A. (2016). Estimated hospital costs associated with preventable health care-associated infections if health care antiseptic products were unavailable. *Clinic Economics and outcomes research*. 8, 197–205.
- 128) Scott, R.D. (2009). The Direct Medical Costs of Healthcare-Associated Infections in U.S. Hospitals and the Benefits of Prevention. Division of Healthcare Quality Promotion National Center for Preparedness, Detection, and Control of Infectious Diseases Coordinating Center for Infectious Diseases Centers for Disease Control and Prevention March. URL <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/11550>.
- 129) Shane, AL. & Stoll, BJ. (2014). Neonatal sepsis: progress towards improved outcomes. *J Infect*. 68, 24–S32.
- 130) Sherwin, J., Heath, T.& Watt, K (2016). Pharmacokinetics and dosing of anti-infective drugs in patients on extracorporeal membrane oxygenation: A Review of the current literature. *Clin Ther*; 38(9),1976–94.
- 131) Sime, F. B., Roberts, M. S., Peake, S. L., Lipman, J., & Roberts, J. A. (2012). Does Beta-lactam Pharmacokinetic Variability in Critically Ill Patients Justify Therapeutic Drug Monitoring? A Systematic Review. *Annals of intensive care*, 2(1), 35. doi:10.1186/2110-5820-2-35
- 132) Sime, F.B., Roberts, M.S., Roberts, J.A., & Robertson, T.A. (2014). Simultaneous determination of seven β -lactam antibiotics in human plasma for therapeutic drug monitoring and pharmacokinetic studies. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 960, 134-44 .

- 133) Sime, FB., Udy, AA. & Roberts AA. (2015). Augmented renal clearance in critically ill patients: etiology, definition, and implications for beta-lactam dose optimization. *Curr Opin Pharmacol* 24, 1– 6.
- 134) Soto, D., Silva, C., Andresen V., Max, S., Natalia, W., Kwok-Yin, & Andresen, M.. (2015). Monitorización terapéutica de antibióticos: Nuevas metodologías: biosensores. *Revista médica de Chile*, 143(8), 1050-1057.
- 135) Stewart, A., Graves, B., Hajkowicz, K., Ta, K., & Paterson, D. L. (2015). The Use of Therapeutic Drug Monitoring to Optimize Treatment of Carbapenem-Resistant Enterobacter Osteomyelitis. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 21(6), 631–635.
- 136) Sun, H.K., Kuti, J.L.& Nicolau, D.P. (2005) Pharmacodynamics of antimicrobials for the empirical treatment of nosocomial pneumonia: a report from the OPTAMA Program, *Crit. Care Med*, 33, 2222–2227.
- 137) Taccone, FS., Laterre, PF., Dugernier ,T., Spapen, H., Delattre, I., Wittebole, X. (2010). Insufficient β -lactam concentrations in the early phase of severe sepsis and septic shock. *Crit Care*; 14 (4), R126.
- 138) Takeda, S., Nakai, T., Wakai, Y., Ikeda, F., & Hatano, K. (2007). In vitro and in vivo activities of a new cephalosporin, FR264205, against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(3), 826–830.
- 139) Tam, VH., McKinnon, PS., Akins, RL. (2002). Pharmacodynamics of cefepime in patients with Gram-negative infections. *J Antimicrob Chemother*, 50, 425-8.
- 140) Tang, D-Q, Zou, L., Ying, X. X. & Nam-Ong, C. (2015) HILIC-MS for metabolomics: an attractive and complementary approach to RPLC-MS, *Mass Spectrom. Rev.* 574–600.
- 141) Udy, A.A., Roberts, J.A. & Lipman, J. (2018). Antibiotic Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Considerations in the Critically Ill. Springer Nature Singapore Pte Ltd. URL <http://nahf.co.za/wp-content/uploads/Udy-et-al-Antibiotic-PKPD-Considerations-in-critically-ill-patients-2017.pdf>
- 142) Ulldemolins, M. & Rello, J. (2011). The relevance of drug volume of distribution in antibiotic dosing. *Curr Pharm Biotechnol* 12, 1996–2001.
- 143) Ulldemolins, M., Roberts, JA., Rello, J., Paterson, DL. & Lipman J. (2011). The effects of hypoalbuminaemia on optimizing antibacterial dosing in critically ill patients. *Clinical pharmacokinetics*, 50(2), :99–110.

- 144) Ulldemolins, M., Vaquer, S., Llauro-Serra, M., Pontes, C., Calvo, G. & Soy, D. (2014). Beta-lactam dosing in critically ill patients with septic shock and continuous renal replacement therapy. *Critical care*, 18(3), 227.
- 145) Verdier, M. C., Tribut, O., Tattevin, P., Le Tulzo, Y., Michelet, C., & Bentué-Ferrer, D. (2011). Simultaneous determination of 12 beta-lactam antibiotics in human plasma by high-performance liquid chromatography with UV detection: application to therapeutic drug monitoring. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(10), 4873–4879.
- 146) Verhoven, S.M., Groszek, J.J., Fissell, W.H., Seegmiller, A.C., Colby, J.M., Patel, P.C., Verstraete, A.G., & Shotwell, M.S. (2018). Therapeutic drug monitoring of piperacillin and tazobactam by RP-HPLC of residual blood specimens. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 482, 60-64.
- 147) Veringa, A., Sturkenboom, M. G. G., Dekkers, B. G. J., Koster, R. A., Roberts, J. A., Peloquin, C. A., & Alffenaar, J-W. C. (2016). LC-MS/MS for Therapeutic Drug Monitoring of anti-infective drugs. *TrAC-Trends in Analytical Chemistry*, 84(Parte B), 34-40.
- 148) Vincent JL, Rello J, Marshall J, (2009). International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA*. 302:2323-9.
- 149) Vincent, J., Rello, J., Marshall, J., Silva, E., Anzueto, A., Martin, C.D., Moreno, R., Lipman, J., Gomersall, C., Sakr, Y. & Reinhart, k. (2009). International Study of the Prevalence and Outcomes of Infection in Intensive Care Units. *The Journal of the American Medical Association* 302 (21), 2323–2329.
- 150) Vuignier, K., Schappler, J., Veuthey, J.-L., Carrupt, P.-A. & Martel, S. (2010) Drug-protein binding: a critical review of analytical tools, *Anal. Bioanal. Chem.* 398, 53–66.
- 151) Wen, A., Li, Z., Yu, J., Li, R., Cheng, S., Duan, M. (2016) Clinical Validation of Therapeutic Drug Monitoring of Imipenem in Spent Effluent in Critically Ill Patients Receiving Continuous Renal Replacement Therapy: A Pilot Study. *PLoS ONE* 11(4), e0153927.
- 152) Wilbaux, M., Fuchs, A., Samardzic, J., Rodieux, F., Csajka, C., Allegaert, K. (2016) Pharmacometric approaches to personalize use of primarily renally eliminated antibiotics in preterm and term neonates. *J Clin Pharmacol*, 56, 909–35.
- 153) Wong, G., Brinkman, A., Benefield, R., Carlier, M., De Waele, J., El Helali, N., Frey, O., Harbarth, S., Huttner, A., McWhinney, B., Misset, B., Pea, F., Preisenberger, J., Roberts, M., Robertson, T., Roehr, A., Bruck, F., Silvio, F., Ungerer, J., Lipman, J. & Roberts, J., (2014). An international, multicentre survey of β -lactam antibiotic therapeutic drug monitoring practice in intensive care units, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 69 (5), 1416–1423.

- 154) Wong, G., Briscoe, S., McWhinney, B., Ally, M., Ungerer, J., Lipman, J. & Roberts, J.A. (2018). Therapeutic drug monitoring of β -lactam antibiotics in the critically ill: direct measurement of unbound drug concentrations to achieve appropriate drug exposures, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73 (11), 3087–3094
- 155) Wong, WT., Chan, KC., So, PK., Yap, HK., Chung, WH., Leung, YC. (2011). Increased structural flexibility at the active site of a fluorophore-conjugated beta-lactamase distinctively impacts its binding toward diverse cephalosporin antibiotics. *Biol Chem*, 286, 31771-80.
- 156) Yilmaz, C. & Özcengiz, G. (2017). Antibiotics: Pharmacokinetics, toxicity, resistance and multidrug efflux pumps. *Biochemical Pharmacology*, 133, 43-62.
- 157) Yorita-Christensen, K.L., Holman, R.C., Steiner, C.A., Sejvar, J.J., Stoll, B. J. & Schonberger, L.B. (2009). Infectious Disease Hospitalizations in the United States. *Clinical Infectious Diseases*, 49 (7), 1025–1035.
- 158) Zou, L., Meng, F., Hu, L., Huang, Q., Liu, M., & Yin, T. (2019). 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. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 169, 142-150 .
- 159) Zylbersztajn, B., Barraza, M., Torres, J., & Morales, J. (2018). Monitorización terapéutica de antimicrobianos en pediatría. Revisión de la experiencia latinoamericana. *Revista Chilena Infectología*. 35 (1): 22-28