

**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**



**“Estudio farmacocinético de vancomicina en pacientes críticos con shock séptico refractario durante hemofiltración de alto volumen en una unidad de cuidados intensivos”**

**Tesis presentada a la Universidad de Chile para optar al grado de Doctor en Ciencias Farmacéuticas**

**Por:**

**LESLIE ESCOBAR OREGÓN**

**Directores de Tesis**

**Dra. María Nella Gai Hernández**

**Dr. Max Andresen Hernández**

**SANTIAGO – CHILE**

**2014**

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS**

**INFORME DE APROBACIÓN  
TESIS DE DOCTORADO**

Se informa a la Dirección de Postgrado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas que la Tesis presentada por la candidata:

**LESLIE ESCOBAR OREGÓN**

Ha sido aprobada por la Comisión Informante de Tesis como requisito para optar al Grado de Doctora en Ciencias Farmacéuticas, en el examen de defensa de Tesis rendido el día... de .....de 2014.

**Directores de Tesis:**

Dra. María Nella Gai H. \_\_\_\_\_

Dr. Max Andresen H. \_\_\_\_\_

**Comisión Informante de Tesis:**

Dr. Alejandro Álvarez L. (Presidente) \_\_\_\_\_

Dr. Juan Diego Maya A. \_\_\_\_\_

Dr. Iván Saavedra S. \_\_\_\_\_

Dra. Rosemarie Mellado S. \_\_\_\_\_

## DEDICATORIA

A ti, Abel, mi compañero de vida.  
Porque contigo todo tiene sentido.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer a algunas personas que me ayudaron a llevar a cabo este proyecto y también a quienes han estado presentes durante el tiempo que tomé hacerlo.

Agradezco a mis padres, a mi hermano, a Loreto y Martín todo el cariño y los valores de familia. Porque me han alentado siempre y estoy segura que seguirán haciéndolo incondicionalmente. Me siento afortunada de tenerlos.

A mi amiga primordial Natalia, que me demuestra lo bello de la amistad real.

Al grupo de Farmacia Clínica, especialmente a Marcela y Profe Inés, porque han sido las responsables de mi formación académica, pero también, les agradezco su cariño y apoyo sincero.

Al equipo del laboratorio de tecnología farmacéutica por acogerme, apoyarme y facilitarme espacios, risas y tiempos.

Al IFT, por permitirme desarrollar la etapa analítica que parecía imposible.

A mis directores de tesis por la confianza que depositaron en mí y por su ayuda para superar los obstáculos durante proyecto.

A Jason, por enseñarme y motivarme a seguir en esta línea de investigación.

Y sobre todo, agradezco infinitamente a mi marido su incondicional apoyo, su valiosa compañía, constante orientación y su infinita paciencia. Por ser mi soporte incansable, mi refugio favorito y mi fuente inagotable de energía especialmente en la adversidad. Pero principalmente, por enseñarme a planear y vivir proyectos mucho más importantes que los académicos.

## IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La tesis que aquí se presenta fue desarrollada en el Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile en conjunto con la Unidad de Paciente Crítico del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Contó con el apoyo instrumental del Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas (IFT) a cargo del profesor QF Iván Saavedra, de la Facultad de Medicina Campus Poniente de la Universidad de Chile y tuvo la asistencia farmacocinética-estadística del Burns, Trauma and Critical Care Research Centre del Royal Brisbane and Women's Hospital, por parte de la Universidad de Queensland, Australia.

La realización de esta investigación tuvo el apoyo y financiamiento siguiente:

- Beca para estudios de Doctorado en Chile. Conicyt 2009 – 2013. (Beca n°21090658).
- Beca de apoyo a la realización de tesis doctoral. Conicyt 2012 (Beca AT2012 n° 24121225).
- Beca de asistencia para estadías cortas de investigación en el extranjero. Vicerrectoría de Asuntos Académicos, Universidad de Chile 2012 – 2013.
- Fondos concursables para Investigación Interdepartamental. Proyecto Medicina Intensiva- Unidad de tratamientos nefrológicos. Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. 2011 – 2013.
- Departamento de Ciencia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Durante la ejecución del proyecto, se han realizado actividades de difusión de esta línea de investigación así como de los principales resultados obtenidos.

#### Congresos y Jornadas:

- **Escobar L**, Downey P, Gai MN, Roberts JA, Regueira T, Andresen M. Farmacocinética de vancomicina y simulación de dosis durante hemofiltración de alto volumen en shock séptico refractario. XXXI Congreso de Medicina Intensiva. Sociedad Chilena de Medicina Intensiva. Pucón, 1 al 3 de noviembre de 2013. Premio al mejor trabajo de Farmacia Clínica.
- **Escobar L**, Downey P, Gai MN, Roberts JA, Regueira T, Bórquez T, Andresen M. Vancomicina y hemofiltración de alto volumen en shock séptico: farmacocinética poblacional y simulación de dosis. XXX Congreso conjunto de las Sociedades de Nefrología e Hipertensión. Chillán, 14 al 16 de noviembre de 2013. Premio al mejor trabajo clínico.
- **Escobar L**, Downey P, Andresen M, MN Gai. Concentraciones plasmáticas de vancomicina en pacientes críticos sépticos en hemofiltración de alto volumen. XII Jornadas de Investigación en Ciencia y Tecnología. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéutica. Universidad de Chile. Santiago, 24 de abril de 2013. Premio al mejor trabajo de investigación.

#### Publicaciones:

- **Escobar L**, MN Gai, Regueira T, Andresen M. Consideraciones farmacocinéticas en el paciente crítico. Revista Médica de Chile 2012;140: 780 – 788.
- **Escobar L**, Andresen M, Downey P, Gai MN, Regueira T, Bórquez T, Lipman J, Roberts JA. Population pharmacokinetics and dose simulation of vancomycin in critically ill patients during high-volume haemofiltration. International Journal of Antimicrobial Agents 2014;44:163–167.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
IDENTIFICACIÓN DEL PROYECTO .....	IV
ÍNDICE GENERAL .....	VI
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS .....	X
RESUMEN .....	XII
ABSTRACT .....	XIV
GLOSARIO .....	XVI
<b>1. Introducción .....</b>	<b>1</b>
1.1. PACIENTE CRÍTICO. ....	1
1.1.1.Sepsis en el paciente crítico .....	2
1.1.2.Farmacología antimicrobiana .....	5
1.1.3.Hemofiltración de alto volumen .....	7
1.2. FARMACOCINÉTICA CLÍNICA EN EL PACIENTE CRÍTICO.....	14
1.2.1.Etapas del ADME en el paciente crítico .....	15
1.3. VANCOMICINA .....	19
1.3.1.Características de la molécula.....	19
1.4. FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL .....	24
1.4.1.Modelado farmacocinético.....	24
1.4.2.Simulación de dosis.....	27
<b>2. Hipótesis.....</b>	<b>28</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>29</b>
3.1. OBJETIVO GENERAL.....	29
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29

<b>4. Metodología</b> .....	<b>30</b>
4.1. ETAPA CLÍNICA .....	31
4.1.1. Selección de pacientes.....	31
4.1.2. Recolección de datos .....	32
4.1.3. Condiciones de la hemofiltración de alto volumen.....	34
4.1.4. Muestreo farmacocinético: Toma de muestras.....	34
4.2. ETAPA ANALÍTICA.....	38
4.2.1. Validación de la metodología analítica .....	38
4.2.2. Análisis de las muestras biológicas .....	58
4.3. ETAPA FARMACOCINÉTICA .....	59
4.3.1. Análisis farmacocinético individual .....	60
4.3.2. Coeficiente de tamizaje de vancomicina en HFAV .....	61
4.3.3. Análisis farmacocinético poblacional .....	61
4.3.4. Simulación farmacocinética de dosis.....	65
<b>5. Resultados y discusión</b> .....	<b>67</b>
5.1. ETAPA CLÍNICA .....	68
5.1.1. Caracterización de los pacientes.....	68
5.2. ETAPA ANALÍTICA .....	73
5.2.1. Proceso de validación en plasma .....	73
5.2.2. Cuantificación de vancomicina en las muestras .....	87
5.3. ETAPA FARMACOCINÉTICA .....	90
5.3.1. Análisis farmacocinético individual .....	90
5.3.2. Coeficiente de tamizaje promedio de vancomicina en HFAV .....	96
5.3.3. Análisis farmacocinético poblacional .....	97
5.3.4. Simulación de dosis .....	110
<b>6. Conclusiones</b> .....	<b>123</b>
<b>7. Bibliografía</b> .....	<b>125</b>
<b>8. Anexos</b> .....	<b>135</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos en el paciente crítico .....	15
Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos de vancomicina .....	22
Tabla 3. Reactivos y solventes utilizados en el análisis .....	39
Tabla 4. Rango de concentraciones plasmáticas luego de la administración de 1g de vancomicina .....	40
Tabla 5. Dilución de las soluciones de trabajo para calibrantes .....	44
Tabla 6. Volumen de solución stock para generar losQC .....	45
Tabla 7. Condiciones para el análisis porUPLC/MS-MS .....	49
Tabla 8. Características de la muestra de pacientes .....	70
Tabla 9. Características de los pacientes estudiados .....	72
Tabla 10. Evaluación de interferentes en los tiempos de retención de los analitos.....	75
Tabla 11. Linealidad promedio del sistema.....	77
Tabla 12. Límite de cuantificación. Parámetros de precisión y exactitud.....	80
Tabla 13. Precisión y exactitud intra-día.....	82
Tabla 14. Precisión y exactitud inter-día .....	83
Tabla 15. Estabilidad a corto plazo para vancomicina.....	85
Tabla 16. Estabilidad ciclos de congelamiento/descongelamiento .....	85
Tabla 17. Estabilidad en <i>autosampler</i> equipo UPLC-MS/MS.....	86
Tabla 18. Concentración de vancomicina versus tiempo en los pacientes reclutados.....	88
Tabla 19. Parámetros farmacocinéticos poblacionales para un modelo de 2 compartimentos.....	98
Tabla 20. Parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos con el modelamiento no lineal de efectos mixtos. ....	107
Tabla 21. Incertidumbre del modelo para predecir los parámetros farmacocinéticos poblacionales .....	107

Tabla 22. Condiciones para las simulaciones de dosis.....	111
Tabla 23. Dosificación de vancomicina según velocidad de hemofiltración obtenidos de la simulación de dosis.....	115
Tabla 24. Resultado de la simulación de dosis de vancomicina durante HFAV en pacientes críticos.....	120

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema simplificado del acceso venoso al filtro.....	10
Figura 2. Esquema de remoción de sustancia durante HFAV .....	11
Figura 3. Cambios fisiopatológicos que afectan la disposición de fármacos en el paciente crítico. ....	18
Figura 4. Estructura química de vancomicina .....	20
Figura 5. Esquema de los tiempos de toma de muestras .....	35
Figura 6. Esquema del muestreo desde el sistema de hemofiltración .....	36
Figura 7. Vancomicina (VMC) .....	39
Figura 8. Cefepima clorhidrato (CFP) .....	39
Figura 9. Metodología para el tratamiento de muestras plasmáticas y de extracción.....	47
Figura 10. Base de datos para análisis poblacional por NONMEM®.....	62
Figura 11. Diagrama de flujo para la selección de los pacientes .....	69
Figura 12. Espectros de masa de cefepima.....	73
Figura 13. Espectro de masa de vancomicina .....	74
Figura 14. Plasma blanco para selectividad .....	76
Figura 15. Linealidad promedio del sistema. ....	78
Figura 16. Desviación estándar de la muestra blanco .....	79
Figura 17. Curvas de concentración plasmática total pre filtro de vancomicina versus tiempo de los pacientes reclutados. ....	94
Figura 18. Concentración plasmática total promedio de vancomicina durante 12 horas de HFAV.....	95
Figura 19. Coeficiente de tamizaje durante HFAV en todos los pacientes estudiados.....	96
Figura 20. Modelo de 2 compartimentos.....	98
Figura 21. Evaluación de posibles covariables para el <i>clearance</i> del compartimento central (CL).....	101

Figura 22. Evaluación de posibles covariables para el volumen de distribución del compartimento central (V1) .....	102
Figura 23. Evaluación de posibles covariables para el volumen de distribución del compartimento periférico (V2) .....	103
Figura 24. Evaluación de posibles covariables para <i>clearance</i> intercompartimental (Q) .....	104
Figura 25. Bondad de ajuste de los parámetros farmacocinético modelados y los observados. ....	106
Figura 26. Simulación de dosis seleccionadas: Dosis de carga seguida de dosis de mantención .....	116
Figura 27. Dosis de vancomicina por infusión continua luego de una carga...	118

## **RESUMEN**

Los pacientes críticos tienen serios cambios farmacocinéticos debido a situaciones fisiopatológicas relacionadas con su condición y por intervenciones para controlar el daño inicial. La filtración de grandes volúmenes de sangre a gran velocidad (Hemofiltración de Alto Volumen, HFAV), ha mostrado beneficios hemodinámicos en los pacientes severamente enfermos. Sin embargo, aún es incierta la dosificación de antimicrobianos durante su empleo, en especial para vancomicina, glicopéptido ampliamente utilizado en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI).

El objetivo de este estudio fue describir la farmacocinética individual y poblacional de vancomicina en pacientes críticamente enfermos con shock séptico refractario recibiendo HFAV y definir una dosificación apropiada para estos pacientes según diferentes simulaciones de dosis.

Método: Estudio farmacocinético prospectivo en la UCI del Hospital Clínico de la Universidad Católica, durante julio de 2011 a julio de 2012. Se extrajeron muestras de sangre y de líquido ultrafiltrado durante 12 horas de HFAV. Las muestras fueron analizadas por una metodología especialmente desarrollada en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas. Se realizó un análisis de modelado no lineal de efectos mixtos para describir la farmacocinética poblacional. Finalmente, se realizó una simulación de dosis para vancomicina en diferentes condiciones de HFAV.

Resultados: Se reclutaron 9 pacientes, de los cuales 5 eran hombres. El promedio de peso e índice SOFA fue  $70 \pm 18$  Kg y  $11,3 \pm 3,9$ , respectivamente. Los valores promedio de la HFAV fueron un  $Q_b$  cercano a 240 mL/min y una velocidad de ultrafiltración cercana a los 100 mL/Kg/h. El análisis farmacocinético poblacional indicó que vancomicina se ajusta a un modelo de dos compartimentos, con velocidad de administración de orden cero. Los parámetros farmacocinéticos estimados fueron *clearance* (CL) de 2,9 L/h, volumen de distribución del compartimento central (V1) de 11,8L, volumen de distribución del compartimento periférico (V2) de 18,0L y *clearance* intercompartimental (Q) de 9,3 L/h, muy similares a los parámetros descritos para pacientes sin deterioro de la función renal. La velocidad de HFAV resultó estar fuertemente asociada con el CL de vancomicina ( $p < 0,05$ ) y fue definido como la única covariable del modelo farmacocinético. Las simulaciones de dosis indicaron que luego de la administración de una dosis de carga, las dosis de mantención según las velocidad de HFAV deberían ser 750 mg cada 12 horas para HFAV= 69 mL/kg/h, 1000mg cada 12 horas para HFAV=100 mL/kg/h y 1500mg cada 12 horas para HFAV=123 mL/kg/h. La infusión continua también podría ser una estrategia válida de administración.

En conclusión, se requieren dosis de vancomicina variables y mayores a las estándares para alcanzar concentraciones terapéuticas en pacientes durante HFAV.

## **ABSTRACT**

Critically ill patients have serious pharmacokinetic changes due to pathophysiological situations related to their condition and by interventions to control the initial injury. The filtration of large volumes of blood at high speed (High Volume Hemofiltration, HVHF) has shown benefits in severely ill patients. However, it is still uncertain dosing of antimicrobials during the procedure, especially for vancomycin, glycopeptide widely used in intensive care units (ICU).

This study aimed to describe the individual and population pharmacokinetics of vancomycin in critically ill patients with refractory septic shock undergoing continuous venovenous HVHF and to define appropriate dosing for these patients according to several dose simulations.

**Method:** This was a prospective pharmacokinetic study in the ICU of the Universidad Católica Clinical hospital during July 2011 to July 2012. Blood and ultrafiltrate samples were taken over one vancomycin dosing interval during 12 hours of HVHF. Samples were analysed by a developed and validated liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay. Non-linear mixed-effects modelling was used to describe the population pharmacokinetics. Dosing simulations were used to define therapeutic vancomycin doses for different HVHF settings.

**Results:** Nine patients were included (five male). The mean weight and SOFA score was 70 kg and 11, respectively. Mean HVHF settings were: blood flow

rate, 240 mL/min; and haemofiltration exchange rate, 100 mL/kg/h. A linear two-compartment model with zero-order input adequately described the data. Mean parameter estimates were: clearance (CL), 2.9 L/h; volume of distribution of central compartment (V1), 11.8 L; volume of distribution of peripheral compartment (V2), 18.0 L; and intercompartmental clearance (Q), 9.3 L/h, all of them very similar to patients with normal renal function. HVHF intensity was strongly associated with vancomycin clearance ( $p < 0.05$ ) and was the covariate in the final pharmacokinetic model. Simulations indicate that after a loading dose, vancomycin doses required for different HVHF intensities would be 750 mg every 12 h (q12 h) for 69 mL/kg/h, 1000 mg q12 h for 100 mL/kg/h and 1500 mg q12 h for 123 mL/kg/h. Continuous infusion would also be a valuable administration strategy. In conclusion, variable and much higher than standard vancomycin doses are required to achieve therapeutic concentrations during different HVHF settings.



## GLOSARIO

ABC	: Área Bajo la Curva de la concentración plasmática versus tiempo.
APACHE II	: Del inglés <i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i> .
CIM	: Concentración Inhibitoria Mínima (en mg/L).
CL	: Del inglés <i>Clearance</i> . Aclaramiento (en mL/min).
C <sub>máx</sub>	: Concentración plasmática máxima (en mg/L).
C <sub>mín</sub>	: Concentración plasmática mínima (en mg/L).
Crea	: Creatinina plasmática (en mg/dL).
CV	: Coeficiente de variación.
DE	: Desviación estándar.
EMA	: European Medicine Agency. Agencia regulatoria de Europa.
FDA	: Food and Drug Administration. Agencia regulatoria de Estados Unidos.
h	: hora.
HFAV	: Hemofiltración de alto volumen.
HPLC	: Del inglés <i>High Performance Liquid Chromatography</i> .
IMC	: Índice de masa corporal (en Kg/m <sup>2</sup> ).
IS	: Del inglés <i>internal standard</i> . Estándar interno.
IV	: Intravenoso.
Kel	: Constante de velocidad de eliminación (en h <sup>-1</sup> ).
kDa	: Kilodálton.
L	: Litros.
LOD	: Límite de detección.
LOQ	: Límite de cuantificación.
mg	: miligramos
NONMEM	: <i>Non-linear mixed effects</i> .
PK/PD	: Del inglés <i>pharmacokinetics/pharmacodynamics</i> .
PRED	: Concentración plasmática de vancomicina predicha.

Q	: <i>Clearance</i> intercompartmental (en L/h)
Qb	: Flujo de sangre (en mL/min).
RES	: Errores de predicción.
SAMR	: <i>Staphylococcus aureus</i> meticilino resistente.
SRIS	: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.
SOFA	: Del inglés <i>Sepsis –related Organ Failure Assessment</i> .
T ½	: Tiempo de vida media de eliminación (en h).
UF	: Ultrafiltrado.
UCI	: Unidad de Cuidados Intensivos.
V1	: Volumen de distribución del compartimento central (en L).
V2	: Volumen de distribución del compartimento periférico (en L).

---

## 1. Introducción

---

### 1.1. PACIENTE CRÍTICO

Se entiende por paciente crítico a aquel que tiene un severo compromiso de su estado de salud, pudiendo desarrollar disfunciones o fallas de uno o más órganos.<sup>1</sup> Así, presentan cambios agudos en sus parámetros fisiológicos y bioquímicos con alto riesgo de progresar en su gravedad e incluso fallecer, pero por definición tienen posibilidades de recuperación. Es requerida una atención en Unidades de Cuidados Intensivos (UCIs)<sup>1</sup> con monitorización permanente, soporte vital, oportunos y complejos esquemas de tratamiento farmacológicos junto de otras alternativas terapéuticas de soporte en alguna función orgánica como renal, respiratoria, nutricional, etc., para lograr un mejor desenlace clínico.

Las causas del estado crítico son diversas y entre las principales se describen la sepsis grave, causas cardiológicas, neurológicas, traumas, causas respiratorias, entre otras.<sup>1,2</sup>

La evaluación de estos pacientes puede ser objetivada mediante la aplicación de algunas escalas que generan una puntuación proporcional al nivel de

gravedad, como el *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*, versión II (APACHE II) y el *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA).

El índice APACHE II permite estimar la gravedad del paciente independiente del diagnóstico mediante la ponderación de las alteraciones en los exámenes de laboratorio de evaluación fisiológica. El rango va desde 0 a 71 puntos. Mientras más alto, mayor riesgo de mortalidad en el paciente.<sup>3</sup>

Por otro lado, el valor SOFA evalúa 6 sistemas (respiración, coagulación, hígado, cardiovascular, sistema nervioso central, función renal). El rango es de 0 a 24, relacionando un valor alto con un deterioro importante de funciones orgánicas, con aumento de la mortalidad.<sup>4</sup>

### **1.1.1. SEPSIS EN EL PACIENTE CRÍTICO**

Se considera a la sepsis como un síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS o más conocido como SIRS, por sus siglas en inglés de *Systemic Inflammatory Response Syndrome*) causada por una infección que puede progresar a sepsis severa cuando se presenta disfunción orgánica aguda, o a *shock* séptico si la sepsis severa se acompaña de hipotensión refractaria a la resucitación con fluidos o a fármacos vasopresores.<sup>5-8</sup>

La sepsis y el *shock* séptico son importantes problemas de salud que afectan a millones de personas en todo el mundo y ambas entidades además de ser

frecuentes, pueden ser mortales.<sup>7,9</sup>Estos diagnósticos muy frecuentes en UCI asociados a una alta tasa de morbimortalidad que podría ser >30%<sup>8</sup>con elevados costos económicos.<sup>2,6,9-11</sup>

Todo lo anterior podría estar relacionado con un aumento de la estadía hospitalaria en la UCI, mayor disfunción de órganos y mayor uso de recursos hospitalarios por monitorización permanente de signos vitales, ventilación mecánica, terapia de reemplazo renal y consumo de medicamentos.<sup>6,10,12</sup>Aumenta también el riesgo de sobreinfecciones, que podría ser mayor que en servicios médicos generales.<sup>7,13</sup>

Se estima que anualmente 20 – 30 millones de personas en el mundo cursan con sepsis y cada hora cerca de 50 personas mueren por esa condición, cifra mayor que las causadas por cáncer de próstata, de mama o VIH.<sup>14</sup>En Chile, los datos aportados por el único estudio realizado en el área señalan una prevalencia de sepsis grave en las UCIs de 32,5%, siendo el principal diagnóstico de ingreso a UCI con una tasa de mortalidad a los 28 días de 27,4%.<sup>2</sup>

Aunque la mortalidad por sepsis ha disminuido en los últimos años al mejorar el diagnóstico precoz y su manejo,<sup>14</sup>aparecen frecuentes complicaciones que dependen de factores como la edad (mayor riesgo en la sexta década de la vida), sexo (más frecuente en hombres que en mujeres), comorbilidades (como

cáncer, falla crónica de algún órgano), presencia de daño pulmonar o renal agudo, presencia de infección nosocomial, iatrogenia, incluso algunos factores genéticos como polimorfismos en los genes que regulan la inmunidad, entre otros aspectos.<sup>8,10-12,15,16</sup>

En el último consenso mundial *Surviving Sepsis Campaign* (2012),<sup>7</sup> se actualizaron los criterios de tratamiento indicando que las estrategias están agrupadas en paquetes de acción durante las primeras horas de sospecha de sepsis, que contemplan la resucitación inicial protocolizada, la búsqueda clínica de sepsis para su diagnóstico, inicio precoz de terapia antibiótica endovenosa, control de la fuente de infección, y prevención de próximas infecciones.<sup>6,7,9,12,17</sup>

A pesar que desde fines del siglo XIX, Louis Pasteur pudo dar una noción de que la sepsis genera una respuesta sistémica para combatir un agente patógeno, sólo en los últimos 15 años se han enlistado los signos y síntomas que permiten llegar a una definición.<sup>6,8</sup> Sin embargo, tampoco está del todo explicada la fisiopatología y epidemiología asociada a esa condición.<sup>6,18,19</sup>

En la sepsis, se presentan respuestas pro- y anti-inflamatorias mediadas por interleukinas, factor de necrosis tumoral (TNF), y otras citoquinas.<sup>6</sup> Las teorías fisiopatológicas del SRIS indican que la liberación excesiva y casi descontrolada de mediadores pro-inflamatorios destinadas a eliminar el patógeno pueden ser a la vez, las responsables del daño colateral en tejidos, mientras que las

antiinflamatorias destinadas a limitar la lesión, convierten al paciente en un hospedero susceptible a infecciones secundarias.<sup>6,8,19,20</sup>

Gracias a algunos modelos animales de shock séptico,<sup>21</sup> y luego con pruebas controladas realizadas en humanos, se ha propuesto que la remoción de esos mediadores podría generar un control sobre el SRIS. Es decir, la “purificación” de la sangre podría ser una medida plausible en este disturbio inmunológico buscando la homeostasia en el paciente, junto al necesario uso de antimicrobianos.<sup>22-25</sup>

### **1.1.2. FARMACOLOGÍA ANTIMICROBIANA**

El control de la infección es uno de los pilares del tratamiento de sepsis, siendo los antimicrobianos los fármacos más importantes.<sup>18,26,27</sup> Aunque la identificación del patógeno causante de la infección puede tardar al menos 2 días, la administración de antimicrobianos debe ser muy precoz, idealmente en la primera hora del reconocimiento de la sepsis severa y del *shock séptico*<sup>7</sup> ya que cada hora de retraso aumenta el riesgo de mortalidad en estos pacientes.<sup>14,27,28</sup> Además, los pacientes críticos tienen mayor riesgo de contraer infecciones nosocomiales respecto de aquellos de servicios médicos generales por lo que es necesario tener en cuenta el uso de antimicrobianos frecuentemente.<sup>13</sup>

La elección de la terapia antibiótica requiere un estricto conocimiento de la flora nosocomial de cada centro hospitalario, de los recursos disponibles y principalmente de la susceptibilidad de los patógenos causantes de la infección<sup>10,11</sup> para luego de-escalar hacia el antibiótico más específico.<sup>7</sup>

Esto indica que se necesita optimizar tanto la dosis de los antibióticos como también, la duración del tratamiento. El conocimiento y aplicación clínica de las propiedades y de las condiciones farmacocinéticas/farmacodinámicas (PK/PD) de los antibióticos juega un rol particular a la hora de conseguir el éxito de la terapia.<sup>29,30</sup>

De esta forma, y basado en la efectividad bactericida, los antibióticos se clasifican como dosis-dependientes o tiempo-dependientes.<sup>31</sup> En general, los que son dosis-dependientes deben alcanzar una concentración del fármaco libre al menos 8 veces mayor que la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) que limita el crecimiento del patógeno. En cambio, los antibióticos tiempo-dependientes requieren que la concentración de fármaco libre alcanzada en el sitio de la infección permanezca al menos el 50% del intervalo de dosificación por sobre la CIM,<sup>29,31</sup> o bien, que la relación entre el área bajo la curva del gráfico concentración plasmática libre versus tiempo (ABC), y la CIM alcance una magnitud determinada (relación ABC/CIM).<sup>29-31</sup>



Particularmente para infecciones de pacientes críticos, los antibióticos dosis-dependientes deben superar la CIM durante el 100% del intervalo de dosificación.<sup>29-31</sup>

Estas condiciones deben cumplirse aun cuando existan factores que modifican la disposición de los antibióticos en el organismo del paciente. Como ha sido antes mencionado, la mortalidad en UCI puede aumentar cuando la ya sea por una entrega inoportuna de la terapia, por la selección del fármaco inadecuada y/o la administración de una dosis incorrecta que generan concentraciones plasmáticas inefectivas en pacientes con sepsis.<sup>20</sup> Por estas razones, la dosificación de antibióticos es un desafío diario en ICU.<sup>29,32</sup>

### **1.1.3. HEMOFILTRACIÓN DE ALTO VOLUMEN**

A lo largo de los años, se han evaluado y actualizado constantemente los protocolos de tratamiento de la sepsis y sus complicaciones,<sup>26</sup> destacando la necesidad de esquemas de tratamientos farmacológicos tanto en la reanimación como también el control de la infección, junto a alternativas terapéuticas de soporte mecánico en respiración y/o función renal.<sup>6,33,34</sup>

Sin embargo, un subgrupo de pacientes sépticos pueden ser refractarios a las medidas convencionales de tratamiento, en quienes la aplicación de una terapia de depuración sanguínea ha mostrado alentadores resultados.<sup>35</sup>

Esta técnica, llamada hemofiltración, fue descrita a fines de los años 70's como una nueva técnica de terapia de reemplazo renal (TRR) que comenzó a utilizarse ya no sólo en falla renal aguda severa de pacientes críticos como consecuencia del SRIS, sino también como una terapia adicional para pacientes hemodinámicamente inestables y refractarios a los protocolos de manejo<sup>23,35,36</sup> al observarse interesantes beneficios desde el punto de vista de mejoramiento de la hemodinamia, disminución de los requerimientos de fármacos vaso-activos, como norepinefrina, y reducción de la mortalidad esperada<sup>21,24,37</sup> fortaleciendo la teoría de los mediadores pro y antiinflamatorios presentes en el SRIS.<sup>35</sup>

Esta técnica ha sufrido muchas variaciones en el tiempo, principalmente en el tipo de membrana utilizada, la velocidad de flujo empleada (desde 20 a 100 o más mL/kg/h) y el tiempo que dura el proceso<sup>38</sup> (pulsos de 4 -6 horas, 12 horas o continua).

Se ha pensado que al aumentar la velocidad de hemofiltración para incrementar la velocidad de formación del volumen de ultrafiltración (por ejemplo >50 mL/Kg/h) podría aumentar la eficiencia en la remoción de los mediadores inflamatorios. De esta forma, se genera el concepto de Hemofiltración de Alto Volumen (HFAV).<sup>23,24</sup>

La información aportada por modelos animales de shock séptico<sup>21</sup> y estudios con bajo número de pacientes han sustentado que la HFAV sea una técnica de rescate utilizada en ciertos hospitales de nuestro país, como en el Hospital

Clínico de la Universidad Católica. En la UCI de ese hospital, se ha protocolizado su uso desde el año 2006 con demostrado éxito.<sup>39</sup>

Pese a que es aún insuficiente la información de sus efectos concretos sobre los resultados clínicos en los pacientes críticos,<sup>40</sup> se utiliza como una última alternativa de rescate en pacientes seriamente enfermos.<sup>41</sup>

En general, la hemofiltración consiste en un sistema extracorpóreo de remoción de sustancias donde se impulsa la sangre del paciente a gran velocidad a través de una membrana semipermeable (hemofiltro extracorpóreo) luego de ser mezclada con un líquido de sustitución gracias a la gradiente de presión generada por una bomba.<sup>24,40,42</sup> De esta forma, se remueven activamente desde la sangre sustancias en contra de su gradiente de concentración por un proceso fisicoquímico de convección, con el que sólo las moléculas de tamaño menor al de los poros del filtro (generalmente <20 KDa) podrán atravesarlo para ser eliminadas.

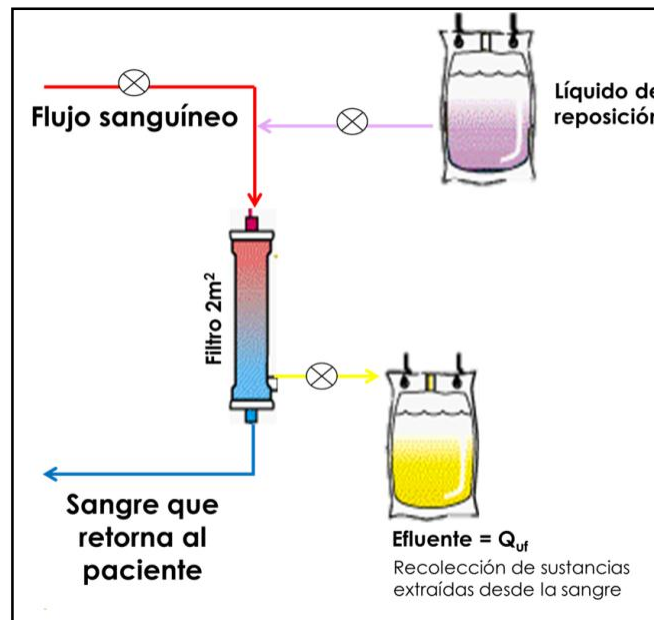
Las Figuras 1 y 2 representan esquemáticamente este procedimiento por el que se generan así dos fluidos: la sangre depurada que retorna al paciente, y el líquido ultrafiltrado (UF) compuesto principalmente por agua y los solutos extraídos.<sup>23</sup> Los volúmenes de sangre, efluente (líquido ultrafiltrado) y líquido de sustitución están en permanente movimiento.

La relación entre la concentración del soluto presente en el líquido UF y en el plasma se conoce como *sieving coefficient* (SC) (también llamado coeficiente de tamizaje, de filtración o de cribado)<sup>21,43</sup> como se expresa en la Ecuación 1:

$$SC = \frac{C_{uf}}{C_{pl}} \quad \text{Ecuación 1}$$

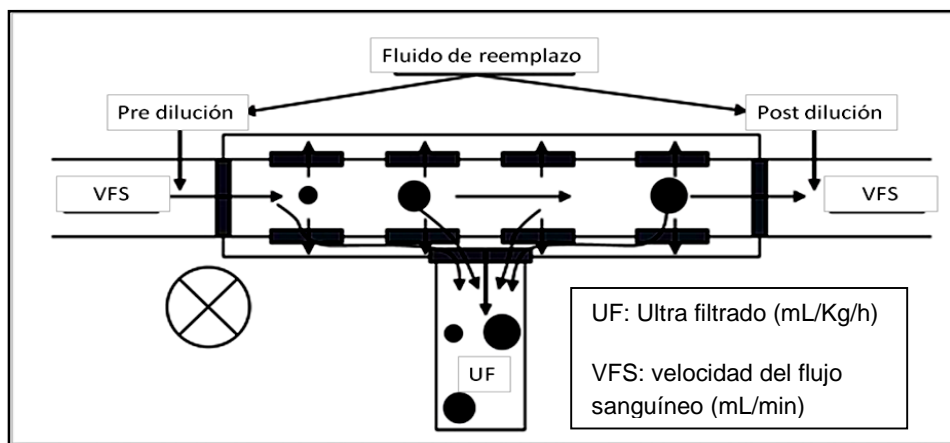
Donde  $C_{uf}$  es la concentración del soluto en el UF, y  $C_{pl}$ , la concentración plasmática del soluto. Si  $SC=0$ , el soluto no es removido y si  $SC=1$ , el soluto pasa al UF. Por lo tanto, cualquier sustancia con un SC más cercano a 1 tiene mayor eliminación en el ultrafiltrado.

Figura 1. Esquema simplificado del acceso venoso al filtro.



Se describe que la remoción de fármacos podría estar favorecida por ciertos factores que dependen del sistema de hemofiltración, de las características fisicoquímicas del fármaco y/o las características del paciente.<sup>43</sup>

Figura 2. Esquema de remoción de sustancia durante HFAV



En general, el tipo de membranas usadas, un gran tamaño de poro y la posible capacidad de adsorción del filtro son factores aportados por el proceso de hemofiltración.<sup>23,42</sup>

Por otro lado, una baja unión a proteínas plasmáticas, bajo volumen de distribución, alta hidrofiliidad y bajo tamaño molecular, son características del fármaco que favorecerían su extracción desde la sangre durante el proceso.<sup>43</sup>

Por último, las alteraciones fisiopatológicas del paciente como hipoalbuminemia, mayor permeabilidad capilar, deterioro de la función renal y cambios en el volumen extravascular, que se traducen en importantes alteraciones

farmacocinéticas en el paciente crítico,<sup>32</sup>también jugarían un importante rol en la remoción de sustancias.<sup>29</sup>

Actualmente, la hemofiltración puede utilizarse como “dosis renal” considerándose como una terapia de reemplazo renal (TRR) cuando se necesita reemplazar la función del órgano dañado por el SRIS, o como “dosis séptica” a mayor velocidad (HFAV) para la remoción de las sustancias dañinas y que ha mostrado los beneficios antes mencionados.<sup>40</sup>Sin embargo, aunque el objetivo de la HFAV es la extracción de los mediadores pro y anti inflamatorios, otras moléculas de bajo tamaño como péptidos, hormonas, glucosa y fármacos podrán también ser removidas.<sup>23,40,43,44</sup>Se ha descrito que ciertas sustancias, como los antibióticos, tienen un SC cercano a 1 por lo que su remoción por estos sistemas de depuración sanguínea está favorecida, afectando su dosificación.<sup>43</sup>

Aunque actualmente se conoce esta situación gracias a las investigaciones tanto *in vitro* como *in vivo* durante hemofiltraciones o TRR de bajo volumen de sustitución, aún son escasos los estudios sobre los cambios en las concentraciones plasmáticas que específicamente la HFAV produce, especialmente para los antibióticos usados en el paciente crítico.

De todos los fármacos que podrían removerse por estas técnicas, los antibióticos son los de mayor preocupación, pues a pesar de las ventajas hemodinámicas aportadas por la HFAV sigue siendo necesario controlar la infección que afecta al paciente. Sumado a las alteraciones farmacocinéticas

observadas en el estado crítico, la HFAV podría estar relacionada con concentraciones sub-terapéuticas de antibiótico lo que conduciría a una falla farmacoterapéutica, pobres resultados clínicos y aumento en el desarrollo de resistencia bacteriana.<sup>27,28,33,43-46</sup>

La cantidad del fármaco depurado por la HFAV es aún incierta para todas las clases de antibióticos. Algunos resultados de investigaciones durante la TRR han mostrado extracción de fármacos desde la sangre,<sup>43</sup> sin embargo, no es posible extrapolar esos resultados a la situación durante HFAV como para suponer una relación directamente proporcional entre la velocidad de filtración y el porcentaje de antibiótico removido.<sup>24</sup> La información actualmente disponible no permite elaborar regímenes estándares de dosificación de antibióticos<sup>46,47</sup> pero se puede suponer que para cumplir los requerimientos farmacocinéticos/farmacodinámicos en el uso de antibióticos, sería necesario administrar dosis altas para compensar la dramática tasa de remoción por estos sistemas.<sup>41,48</sup>

## 1.2. FARMACOCINÉTICA CLÍNICA EN EL PACIENTE CRÍTICO

La farmacocinética es la expresión, en términos cuantitativos, de los principales procesos que experimentan los medicamentos luego de su administración al organismo. Se caracteriza por el proceso A.D.M.E (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción). La aplicación generalizada de esta herramienta en la terapia clínica ha sido posible gracias al desarrollo de métodos analíticos que permiten medir con precisión los fármacos en diferentes líquidos biológicos, y a la posibilidad de expresar el comportamiento del fármaco en el tiempo con modelos matemáticos, para luego diseñar regímenes de dosificación ajustados a las necesidades de los pacientes.<sup>30,49</sup>

En los pacientes críticos, la farmacocinética es muy diferente a la descrita en sujetos sanos<sup>31,49,50</sup> ya que las condiciones fisiológicas en el estado crítico están alteradas como consecuencia de disfunción orgánica, interacciones entre fármacos, respuesta de fase aguda o intervenciones terapéuticas agresivas, como por ejemplo, la reanimación con volumen o las TRR generando cambios en el comportamiento de los fármacos en cada etapa del ADME.<sup>29,32</sup> Por esta razón, los parámetros farmacocinéticos (Tabla 1) descritos para los fármacos no siempre tendrán validez en el paciente crítico complejizando el uso correcto de los medicamentos,<sup>32</sup> haciendo que la disposición del fármaco (es decir, los procesos de distribución y eliminación responsables de las concentraciones plasmáticas alcanzadas) sea completamente diferente.<sup>29</sup>



**Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos en el paciente crítico**<sup>32</sup>

Parámetro farmacocinético		Situación en el paciente crítico
<b>Biodisponibilidad (BD)</b>	Porcentaje de la dosis que es capaz de alcanzar la sangre luego de absorberse en el lugar de administración del medicamento	Alterada. Normalmente es menor porque la capacidad de absorción disminuye
<b>Unión a proteínas plasmáticas</b>	Porcentaje de fármaco que está unido a proteínas, como albúmina	Disminuye. Frecuente reducción de la cantidad de proteínas favorece aumento de la fracción de fármaco libre
<b>Volumen de distribución (Vd)</b>	Espacio virtual donde se encuentra la cantidad de fármaco total administrado	Aumentado. Mayor permeabilidad capilar y mayor aporte de fluidos generan un tercer espacio de distribución de fármacos
<b>Metabolismo</b>	Proceso del ADME que tiene por finalidad, hacer excretables los fármacos administrados	Disminuido. La respuesta será variable según los metabolitos que se formen. Si son activos, es posible que la respuesta disminuya. Si no, la respuesta se prolongará en el tiempo
<b>Vida media de eliminación (T<sub>1/2</sub>)</b>	Tiempo en que la concentración plasmática de un fármaco se reduce a la mitad	Normalmente aumentada. Se relaciona inversamente con el CI
<b>Clearance renal (CI)</b>	Parámetro que da cuenta de la capacidad de eliminación del fármaco desde la sangre. Volumen de sangre por minuto que es depurado	Variable. En las primeras etapas de trauma o sepsis, está aumentado. Posteriormente, podría ocurrir falla renal que disminuya el CI

### 1.2.1. ETAPAS DEL ADME EN EL PACIENTE CRÍTICO

En la Figura 3 se muestran las principales condiciones dadas por las alteraciones fisiopatológicas del paciente en estado crítico y se señalan algunas recomendaciones que consideran los cambios en la disposición para una dosificación adecuada de medicamentos.

Cada etapa de ADME alterada puede contribuir de una forma u otra, en este cuadro farmacocinético alterado:<sup>32</sup>

**Absorción:** En la administración enteral, la absorción normalmente disminuye debido a la reducción de la motilidad gastrointestinal, de mucosa gastrointestinal y variación del pH gástrico. Esta situación puede ocurrir por efecto de fármacos concomitantes como opiodes u otros con actividad

anticolinérgica, o por reducción del flujo sanguíneo esplácnico. La redistribución del flujo sanguíneo hacia el cerebro, corazón y pulmones, en desmedro de territorios como la piel, músculos, así como hígado o riñón, explica la menor biodisponibilidad encontrada tras la administración por vía dérmica, intramuscular o subcutánea, respectivamente.<sup>51</sup>

Sin embargo, la vía oral de administración de fármacos normalmente no es de elección en estos pacientes, aunque estas alteraciones igualmente deben tenerse en cuenta.

***Distribución:*** Los cambios ocurren principalmente por las variaciones en la cantidad y redistribución de agua corporal total afectando principalmente a fármacos hidrofílicos. El aporte de grandes volúmenes de cristaloides usados en la reanimación, junto a la salida de fluidos desde el espacio intravascular hacia el intersticial por mayor permeabilidad capilar (conocido como síndrome de debilidad capilar), crea un tercer espacio similar a lo que ocurre en edema, ascitis o derrame pleural<sup>29,52,53</sup> donde el fármaco puede también distribuirse.

La hipoalbuminemia también altera la cantidad de fármaco libre que puede distribuirse.<sup>51,54</sup>

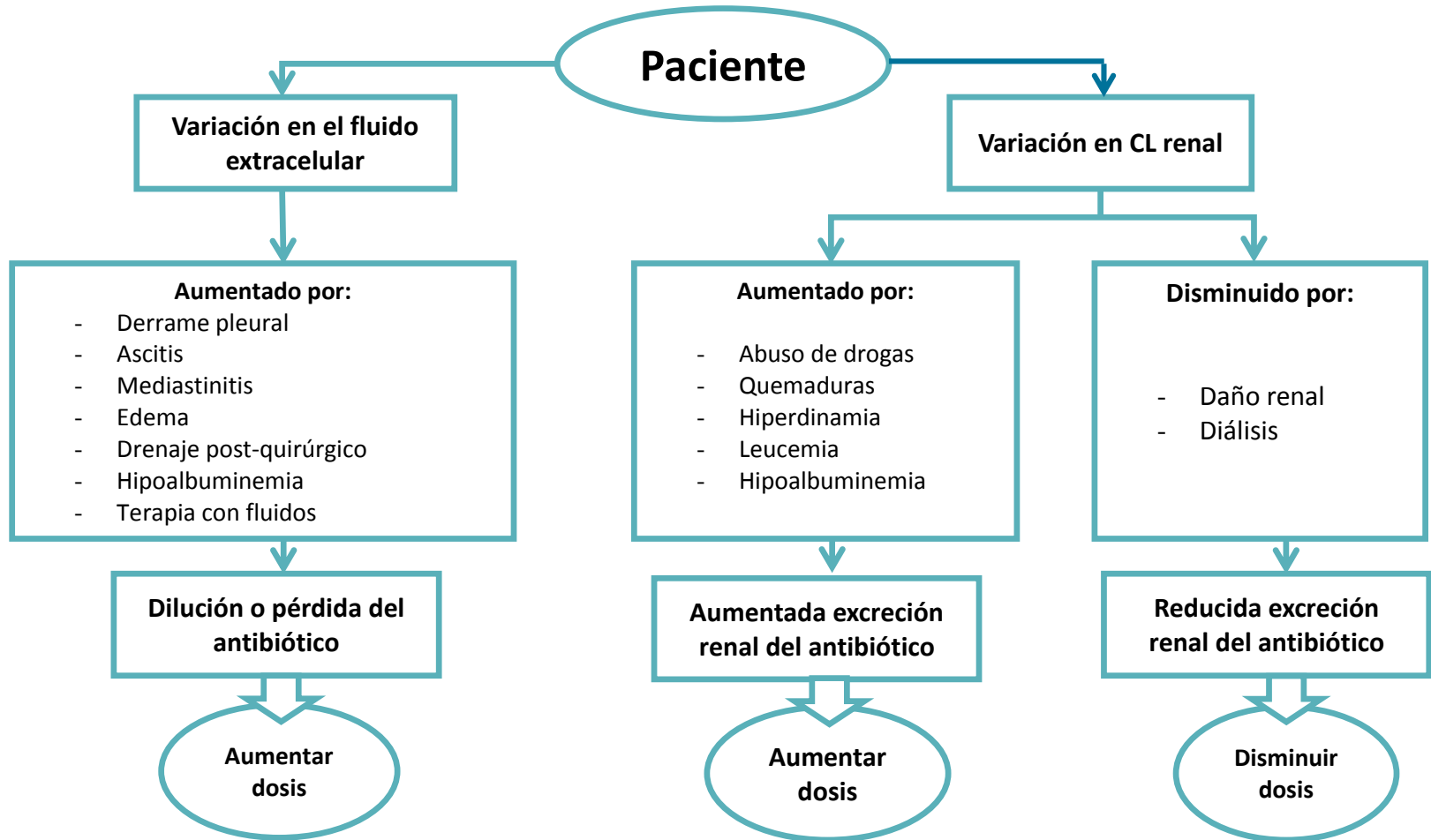
***Metabolismo:*** La cantidad o actividad de estas enzimas hepáticas están disminuidas como consecuencia de la hipoxia, hipoperfusión hepática, liberación de citoquinas, estrés asociado a la hospitalización y también por los aportes nutricionales. Ante el gran número de medicamentos utilizados en

forma concomitante, aumenta el riesgo de interacciones fármaco-fármaco sobre todo respecto a la interferencia inductora o inhibidora enzimática, haciendo difícil predecir cómo será la biotransformación en el paciente crítico.<sup>32</sup>

**Excreción:** el *clearance* (CL) endógeno está modificado según cómo ha cambiado la función del órgano depurador. El CI hepático podría estar reducido tanto por la disminución en el flujo sanguíneo (lo que alterará el metabolismo de fármacos con alta extracción hepática) así como también, por disminución en la actividad enzimática.<sup>51,54</sup>

Las mayores descripciones de variaciones en el CL son para aquellos fármacos con eliminación principalmente renal, ya que la falla renal aguda en los pacientes críticos es frecuente, disminuyendo así la excreción. Sin embargo, se ha descrito que en estados hipermetabólicos como en las etapas iniciales del SRIS, el *clearance* está aumentado.<sup>55</sup>

Figura 3. Cambios fisiopatológicos que afectan la disposición de fármacos en el paciente crítico.



Adaptado de Pea et al<sup>29</sup>

## 1.3. VANCOMICINA

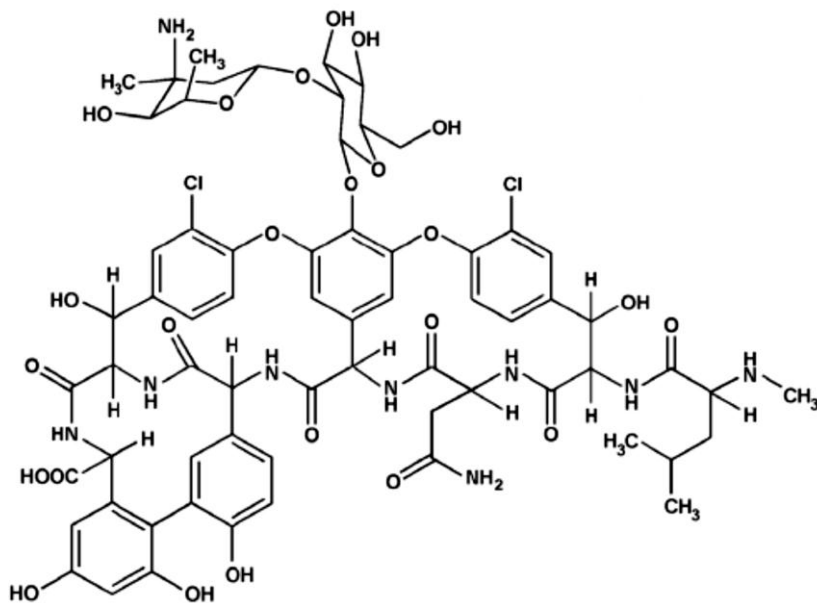
### 1.3.1. CARACTERÍSTICAS DE LA MOLÉCULA

En la práctica clínica, vancomicina sigue siendo muy utilizada en las UCIs en las primeras horas de desarrollo de la patología, normalmente en terapia empírica junto a otros antibióticos como  $\beta$ -lactámicos para ampliar el espectro de acción bactericida, hasta la confirmación del agente infeccioso.

Vancomicina es un antibiótico de gran tamaño molecular. Su espectro de acción bactericida se concentra en bacterias Gram positivas y también frente a algunos anaerobios.<sup>56</sup> Es la primera elección para tratar infecciones severas por estafilococos, especialmente *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR) y es también la alternativa terapéutica en pacientes con alergia a penicilinas.<sup>57</sup> El desarrollo de enterococos resistentes a vancomicina (ERV+) ha generado que su utilización se restrinja cada vez más indicando que se limite a infecciones por patógenos resistentes a antibióticos  $\beta$ -lactámicos o metronidazol o cuando el uso de otros antibióticos está contraindicado.<sup>58</sup> Su uso profiláctico también está indicado en pacientes con alto riesgo de endocarditis, infección por SAMR o por *Staphylococcus epidermidis*.<sup>58</sup>

Está disponible en el mercado hace más de 50 años cuando las opciones para controlar infecciones por *Staphylococcus* penicilino-resistentes eran escasas.<sup>59</sup> Fue desarrollado por el laboratorio farmacéutico Eli Lilly utilizando cepas de *Streptomyces orientalis*.

Figura 4. Estructura química de vancomicina



Es un glicopéptido tricíclico de peso molecular aproximadamente 1446 Da, cuya fórmula empírica es  $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$ . Tiene un disacárido formado por una molécula de glucosa y un aminoazúcar llamado vancosamina, anillos aromáticos y varios restos de aminoácidos.<sup>60</sup>

Su mecanismo de acción es considerado bactericida, ya que inhibe la formación de la pared celular bacteriana, convirtiéndolas en células osmóticamente sensibles a lisarse.<sup>61</sup> Se une a las terminaciones D-alanil-D-alanina en las subunidades precursoras de la pared bacteriana.<sup>61</sup> En comparación a otros antibióticos con mecanismos de acción similar como los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, vancomicina no actúa sobre enzimas formadoras de pared, sino que

en el sustrato. Por otro lado, un segundo mecanismo de acción modifica la permeabilidad de la membrana bacteriana, impide una síntesis correcta de ARN y activa enzimas autolíticas.

Con el uso ampliado de vancomicina comenzaron a aparecer cepas resistentes. Se han descrito 6 patrones de resistencia, llamados VanA, VanB, VanC, VanD, VanD y VanG, inducida por la CIM para distintos patógenos.<sup>59</sup>

Se han definido claramente los puntos de corte de las CIM para *S. aureus*. Una CIM <2 mg/L se define como susceptible. Entre 4 y 8 mg/L, se define como de susceptibilidad intermedia y una CIM >16 mg/L, indica resistencia.<sup>62</sup>

El régimen habitual de administración es de 30 mg/Kg por día dividida en 2 o 4 dosis cuando la función renal del paciente está conservada, administrada en infusiones endovenosas de 2 horas.<sup>56</sup> En caso contrario se requiere ajustar la dosis y el intervalo de administración. Con una dosis de 1 g IV, la concentración máxima alcanzada es de 20 a 50 mg/L en plasma y 800 mg/L en orina.

Vía oral, tiene pobre absorción en el tracto gastrointestinal, por lo tanto esa ruta de administración se limita para tratar infecciones serias gastrointestinales como colitis por *Clostridium difficile* o *S.aureus*.<sup>63</sup>

Las recomendaciones de utilización de vancomicina señalan que las concentraciones plasmáticas valle en el paciente críticamente enfermo debieran ser entre 15 y 20 mg/L<sup>64</sup> para conseguir mejor penetración en tejidos y un ABC/MIC>400, ya que a pesar de ser clasificado como un antibiótico tiempo-dependiente, ese índice está relacionado con mayor efectividad

terapéutica.<sup>65</sup> Además, este antibiótico requiere monitorización de las concentraciones plasmáticas periódicamente en especial en el paciente crítico, debido a la alta variabilidad farmacocinética observada y riesgo de toxicidad.<sup>57</sup> Como su eliminación es principalmente renal, vancomicina requiere ajuste de dosis acorde a la función renal del paciente. Aunque la monitorización de los niveles plasmáticos es el mejor instrumento para definir la dosis,<sup>64,66</sup> requiere de las técnicas analíticas para su realización, situación que no está disponible en todos los centros asistenciales. Por tal razón, existen diferentes modelos de dosificación acorde a la velocidad de filtración glomerular del paciente estimada con la depuración de creatinina plasmática.<sup>63</sup>

En cuanto a las consideraciones farmacocinéticas, luego de su administración por infusión endovenosa, vancomicina sigue un modelo de disposición bicompartimental.<sup>67-69</sup> En la Tabla 2 se muestran los principales parámetros farmacocinéticos descritos en la literatura.

**Tabla 2. Parámetros farmacocinéticos de vancomicina**

Parámetro	Condición en sujetos
Vida media	6 h
Eliminación	70-80% renal, filtración glomerular
%Unión a proteínas plasmáticas	<50%
Ajuste de dosis por función renal	Sí
Modelo PK	1 ó 2 compartimentos
Clearance	0,689(Cl <sub>crea</sub> )+3,66 1 compartimento
	0,790 (Cl <sub>crea</sub> )+15,7 2 compartimentos
Relación PK/PD	Razón ABC/MIC > 400
Remoción por HF	Sí
¿Estudios en HFAV?	Sí, con pérdida de dosis <sup>70-732</sup>



Sin embargo, los datos poblacionales obtenidos provienen de estudios en sujetos sanos o en pacientes sin un compromiso de salud importante. En ese sentido, es limitada la cantidad de estudios sobre su perfil farmacocinético en el paciente crítico, y más escasos son aquellos que intentan explicar los cambios farmacocinéticos en pacientes críticos recibiendo algún tipo de hemofiltración de alto volumen.<sup>70-72</sup> Además, las sugerencias de dosis no son del todo específicas y dependen mucho de las condiciones en las que se realizaron los estudios, no arrojando algún modelo estándar de dosificación.

En la práctica clínica, algunos centros cuentan con metodologías analíticas para determinar la concentración plasmática de vancomicina en pacientes. Sin embargo, pese al frecuente uso de vancomicina y las recomendaciones de seguimiento los niveles en sangre de los pacientes, aún esta monitorización no es masiva. En nuestro país, aún existen hospitales en los que no se realiza monitoreo por ausencia de técnicas analíticas o falta de dinero para externalizar el servicio.

## **1.4. FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL**

### **1.4.1. MODELADO FARMACOCINÉTICO**

El modelado farmacocinético poblacional es una herramienta para identificar y describir las relaciones entre las características fisiológicas de los sujetos y la exposición o respuesta observada al fármaco,<sup>73</sup> en este caso, los de concentración plasmática versus tiempo. Considera la presencia de ciertos parámetros, que se interpretan como factores que influyen en el modelo con el objetivo de buscar cuáles de ellos actúan juntos y son responsables de los datos observados.<sup>67</sup>

En un estudio farmacocinético, a partir de los datos aportados por todos los pacientes y que normalmente pueden ser muy dispersos, puede modelarse el error de las estimaciones a partir de la variabilidad entre cada uno de ellos, a diferencia del análisis en dos etapas tradicional para la evaluación farmacocinética que se reduce a que la variabilidad es un valor promedio aportada por cada individuo en igual proporción.<sup>67</sup>

De esta forma intenta entonces relacionar la dosis con las concentraciones alcanzadas en el fluido de interés y las covariables que contribuyen para lograr esas concentraciones en el tiempo.

Estas aproximaciones son relevantes ya que existen fuentes de variabilidad que cambian constantemente y muchas de ellas pueden no ser explicadas con claridad. Los datos farmacocinéticos disponibles en la literatura provienen

normalmente de estudios realizados en sujetos sanos, en condiciones controladas, precisamente como una forma de obtener concordancia entre los resultados con una estadística descriptiva basada en valores de tendencia central, con distribución normal. Sin embargo, ciertos grupos de la población que reciben finalmente el medicamento no fueron representados en esos estudios previos, teniendo una alta variabilidad entre ellos, por lo que resulta difícil asegurar que los parámetros sean similares a los descritos en otros sujetos/pacientes. En ese sentido, el análisis farmacocinético poblacional es frecuentemente utilizado en grupos como pacientes adultos mayores, pacientes pediátricos, pacientes críticos, embarazadas, etc.

Además, el análisis farmacocinético poblacional cuenta con la ventaja de que se puede realizar con poca cantidad de observaciones por individuo, haciendo más económicos los estudios,<sup>67</sup> y que la contribución de cada dato tiene una mejor representación en el valor final que describe el grupo estudiado.

Sin embargo, la principal desventaja descrita radica en que el análisis parece complejo.<sup>67</sup>

La variabilidad de los datos obtenidos tiene distintas fuentes. Algunas pueden no ser explicadas con claridad y ser consideradas aleatorias (*random*) debido al diseño del estudio o variaciones genéticas de los pacientes, influencia del

medio ambiente, etc. En cambio, otras se consideran fijas (*fixed*) como la edad, sexo, comorbilidades, función renal, CL, Vd, etc.

Por lo tanto, el objetivo del análisis farmacocinético poblacional de efectos mixtos es entonces identificar el componente aleatorio y ajustar el componente predecible, para modelar ambas fuentes de variabilidad simultáneamente que por lo general, no es lineal.

Esta es la base para el análisis estadístico de NONMEM (*non-linear mixed effects modelling*).<sup>67,74,75</sup>

La construcción del modelo se realiza mediante diagnósticos seriados, utilizando principalmente 2 criterios para evaluar el progreso estadísticamente significativo:

- Diagnósticos visuales para el ajuste de los datos (*Goodness of fit*)
- Reducción en el *objective function value* (OFV) >3,84 unidades ( $p < 0,05$ , sobre la base de una distribución  $\chi^2$ ).

De esta manera, las etapas para la construcción de un modelo farmacocinético se han resumido en las siguientes:

- Determinación del modelado del error (*residual unexplained variability*, RUV).
- Determinación de modelo compartimental (1, 2 o más compartimentos).

- Determinación de la variabilidad entre los pacientes (*Between-subject variability*, BSV).
- Identificación de covariables que contribuyen en la correlación de los datos por el modelo.
- Evaluación de la robustez del modelo para predecir los datos obtenidos (normalmente con la prueba no paramétrica *Bootstrap*, con 1000 iteraciones).

#### **1.4.2. SIMULACIÓN DE DOSIS**

El proceso de estimación de los parámetros farmacocinéticos permite generar un modelo que describe los datos de la población estudiada. Con ello es posible generar nueva información basada en supuestos de análisis<sup>73</sup> para predecir por ejemplo, concentraciones plasmáticas ante determinadas dosis y guiar así la dosificación.<sup>67</sup> La construcción de gráficos de concentraciones simuladas versus tiempo es una herramienta útil para entender el sistema creado y responderlas frecuentes dudas de la práctica clínica por la escasez de información. El planteamiento de “qué pasaría si...” podría suponer escenarios sin la necesidad de exponer a nuevos sujetos o pacientes a medicamentos para obtener información farmacocinética.<sup>67,74,75</sup> A pesar de que podría considerarse como la última etapa del proceso de modelado farmacocinético, lo cierto es que se trata de un ciclo en continuo perfeccionamiento.

---

## 2. Hipótesis

---

La Hemofiltración de Alto Volumen (HFAV) es responsable del *clearance* de vancomicina en pacientes críticos sépticos que cursan falla renal y que requieren la terapia. Esto podría dificultar los requerimientos farmacocinéticos/farmacodinámicos para tratar cuadros infecciosos en este grupo de pacientes. La utilización de modelos farmacocinéticos poblacionales es útil para ajustar el esquema posológico y obtener las concentraciones plasmáticas terapéuticamente útiles.

---

### **3. Objetivos**

---

#### **3.1. OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un modelo farmacocinético que describa el comportamiento de vancomicina en pacientes críticos recibiendo HFAV.

#### **3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Desarrollar y validar un método bioanalítico para la determinación y cuantificación de vancomicina en plasma humano y líquido ultrafiltrado tras la administración endovenosa en pacientes críticos.
2. Calcular el coeficiente de remoción de vancomicina por el sistema de HFAV.
3. Obtener parámetros farmacocinéticos individuales y poblacionales de vancomicina durante la HFAV.
4. Diseñar estrategias de dosificación de vancomicina durante HFAV según criterios farmacocinéticos/farmacodinámicos en pacientes críticos.

---

## **4. Metodología**

---

El diseño del estudio contempló la realización de 3 etapas secuenciales, desde marzo de 2010 hasta agosto de 2013. Cada etapa se realizó en distintos centros.

- 4.1 Etapa clínica: Reclutamiento de pacientes que cumplieran los criterios de selección. Extracción y almacenamiento de muestras biológicas.
- 4.2 Etapa analítica: Desarrollo y validación de una metodología analítica para la determinación de vancomicina en las muestras de los pacientes.
- 4.3 Etapa farmacocinética: Modelamiento farmacocinético de los datos de concentración plasmática de vancomicina.



## **4.1. ETAPA CLÍNICA**

Se diseñó un estudio farmacocinético prospectivo observacional en la Unidad de Paciente Crítico del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Se consideró el desarrollo de un protocolo bajo la Ley chilena n° 20210,<sup>76</sup> acorde a la Declaración de Helsinki<sup>77</sup> con el fin de seguir las Buenas Prácticas Clínicas.<sup>78</sup> Se diseñó un protocolo de trabajo para cada parte de esta etapa. El protocolo de reclutamiento de pacientes y del proceso de consentimiento informado fue revisado y aprobado previamente por el Comité de Ética del hospital para su ejecución (Proyecto N°10-176). Ver Anexo n°1 y n°2. Protocolos de toma de muestras y registro de datos fueron también desarrollados.

### **4.1.1. SELECCIÓN DE PACIENTES**

Durante un año (julio 2011 a julio 2012), los pacientes que cumplieran los siguientes criterios de selección fueron reclutados para el estudio:

Criterios de inclusión:

- Pacientes adultos  $\geq 18$  años, ambos sexos.
- Requiriendo HFAV por al menos 12 horas (según criterios clínicos de sepsis antes de 6 horas de cruzado umbral de severidad: Lactato  $>4$  mmol/L y dosis de noradrenalina  $>0,3$   $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{min}$ ).
- Con la prescripción de vancomicina durante la HFAV.

- Contando con el consentimiento escrito de aceptación para participar en el estudio por parte del apoderado del paciente (Firma del consentimiento informado).

Criterios de exclusión:

- Pacientes que estuvieran recibiendo algún otro soporte mecánico de depuración sanguínea al momento del muestreo (como oxigenación extracorpórea, ECMO).

Todos los pacientes reclutados contaron con consentimiento del familiar responsable mediante la firma del documento, el cual quedó adjuntado a la ficha de recopilación de información biomédica y farmacocinética desarrollada para este estudio.

#### **4.1.2. RECOLECCIÓN DE DATOS**

La recolección de información necesaria de los pacientes se realizó en una ficha de registro especialmente diseñada para este estudio. Datos para caracterización sociodemográfica, biomédica, y farmacoterapéutica durante el procedimiento de HFAV de los pacientes seleccionados fueron anotados en dicho formulario. La ficha fue manejada bajo confidencialidad mediante un sistema de códigos de la que sólo el investigador principal tuvo acceso (ver Anexo n°3).

Se utilizaron como fuente de información la ficha clínica del paciente, la ficha de enfermería, la ficha de procedimientos nefrológicos y la entrevista con el personal médico y de enfermería a cargo del paciente.

Detalladamente se registró la información que caracterizó el procedimiento de HFAV y del muestreo farmacocinético desde el inicio de la hemofiltración y durante las 12 horas del procedimiento.

La gravedad del estado de salud de cada paciente se evaluó al momento del reclutamiento utilizando el índice *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II* (APACHE II)<sup>3</sup> y el índice *Sequential Organ Failure Assessment* (SOFA).<sup>4</sup> Ambos instrumentos son ampliamente utilizados en las UCIs para caracterizar a los pacientes.

Para obtener el valor que representa el estado de salud, un médico del equipo de la UCI calculó y proporcionó el valor para cada escala utilizando los registros de exámenes de cada paciente.

Se utilizó el programa Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, EE.UU) para la descripción de los pacientes reclutados, analizando los datos con estadística descriptiva los que se presentaron como promedio  $\pm$  DE cuando correspondía.

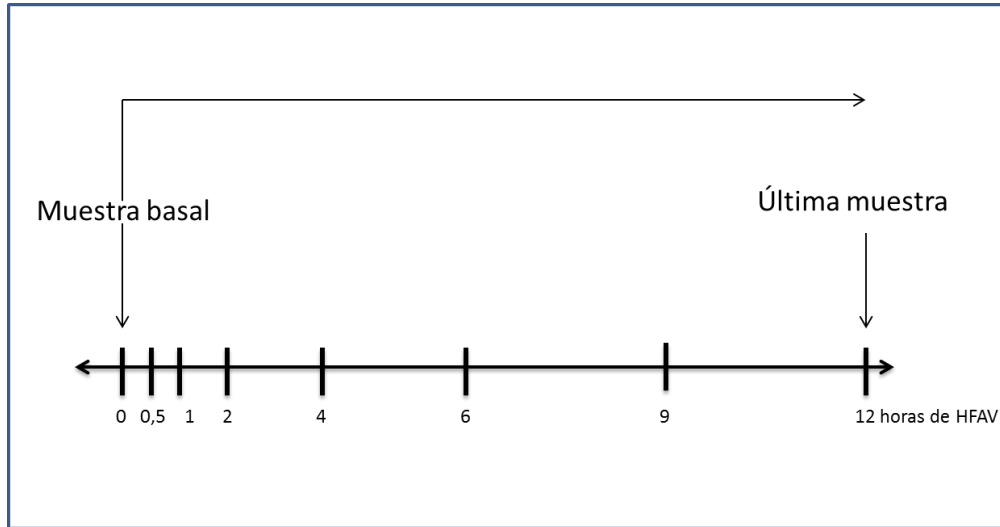
#### **4.1.3. CONDICIONES DE LA HEMOFILTRACIÓN DE ALTO VOLUMEN**

El procedimiento de HFAV estuvo a cargo de la Unidad de Procedimientos Nefrológicos (UPN) del hospital. Un médico nefrólogo definió las condiciones de funcionamiento del equipo según los objetivos terapéuticos y la situación de cada paciente. En todos los pacientes la HFAV se realizó en un modo de pre-dilución (Equipo Diapact CRRT, BBraun, Alemania) con un hemofiltro de polisulfona talla M y/o L (Diacap Acute, BBraun de 1,5 ó 2 m<sup>2</sup> de área, respectivamente). La velocidad de sustitución fue ajustada a aproximadamente 100 mL/Kg/h y el flujo de sangre (Qb) a aproximadamente 250 mL/min. Se prescribió un balance de fluidos neutro y la necesidad de anticoagulación fue evaluada individualmente. Una enfermera de la UPN estuvo a cargo del paciente durante el procedimiento.

#### **4.1.4. MUESTREO FARMACOCINÉTICO: TOMA DE MUESTRAS**

Después de la administración de vancomicina en cada paciente, se extrajeron muestras a distintos tiempos. Como se muestra en la Figura 5, el tiempo de muestreo duró 12 horas de HFAV. De esta forma, se observarían los cambios de concentraciones plasmáticas de vancomicina en el tiempo.

Figura 5. Esquema de los tiempos de toma de muestras



Se tomó una muestra basal antes de iniciada la hemofiltración o antes de la dosis administrada en caso de haber una dosis previa de vancomicina. Luego, se tomaron 3 muestras en cada tiempo programado según lo indicado en la Figura 6: a) una muestra de sangre pre-filtro, b) una muestra de sangre post-filtro, y c) una muestra de líquido ultrafiltrado post-filtro, las que fueron rotuladas con una nomenclatura debidamente establecida, y la hora exacta a la que fueron extraídas. Toda la información del muestreo fue registrada en la ficha de recolección de datos de cada paciente del estudio.

Figura 6. Esquema del muestreo desde el sistema de hemofiltración



Las muestras de sangre fueron extraídas en tubos de llenado al vacío con anticoagulante EDTA (tubo tapa lila) y las de líquido ultrafiltrado en tubos sin preservantes (tubo tapa roja). Una vez extraídas, las muestras de sangre fueron transportadas al laboratorio de urgencias del Hospital Clínico Universidad Católica donde inmediatamente se centrifugaron a 6000 rpm por 15 minutos a 4°C. El plasma obtenido se transfirió a un criovial al que se le agregó una solución de MES 10% pH 7 en una relación 1:1 v/v, *buffer* utilizado para aumentar la estabilidad de antibióticos beta-lactámicos presentes en las muestras con posibilidad de ser analizados. Las muestras estabilizadas fueron nuevamente rotuladas y almacenadas a -80°C hasta su análisis. Las muestras de ultrafiltrado también se diluyeron a la mitad con la solución de MES 10% pH 7, y se almacenaron a -20°C hasta su análisis.

Debido a que no se obtuvieron resultados farmacocinéticos relevantes con la información de la concentración de vancomicina en el líquido ultrafiltrado, no se presentan los datos de la validación de la metodología analítica en esa matriz biológica.

La validación realizada para la determinación y cuantificación de vancomicina en el líquido ultrafiltrado cumplió con los mismos parámetros de validación en plasma. Se realizaron las etapas para la extracción de vancomicina desde la matriz al igual que en plasma, y el análisis se realizó bajo las mismas condiciones de detección. Las curvas de calibración se realizaron en el rango de linealidad igualmente descrito para plasma, y los controles de calidad correspondían a la misma concentración.

La metodología descrita en la fase analítica que a continuación se describe es sólo en plasma, la que permitió obtener los más importantes resultados de este trabajo de investigación y los que son discutidos más adelante en este texto.

## **4.2. ETAPA ANALÍTICA**

Se desarrolló y validó una metodología analítica para la determinación de vancomicina en las muestras de plasma de los pacientes reclutados por cromatografía líquida acoplado a espectrometría de masas. Se trabajó en el Centro de Investigaciones Farmacológicas y Toxicológicas (IFT) de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

### **4.2.1. VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA**

Se desarrolló inicialmente un plan de validación para el diseño experimental.<sup>79</sup> Se utilizaron los parámetros y condiciones de trabajo establecidos en el Procedimiento Operacional Estándar POE-EBA 012 del IFT, en la guía para la industria de la FDA<sup>80</sup> y de la EMA.<sup>81</sup> Se describe a continuación el protocolo de análisis de las muestras sanguíneas, utilizando plasma como matriz biológica.

#### **4.2.1.1. Reactivos**

Se utilizaron estándares primarios de vancomicina y cefepima. Este último fue empleado como estándar interno (IS) para la cuantificación. Los solventes utilizados tanto en la validación como en el análisis de las muestras fueron de calidad HPLC. En la Tabla 3 se mencionan los materiales utilizados en el



desarrollo de la metodología, la validación y posterior análisis de las muestras biológicas obtenidas de los pacientes.

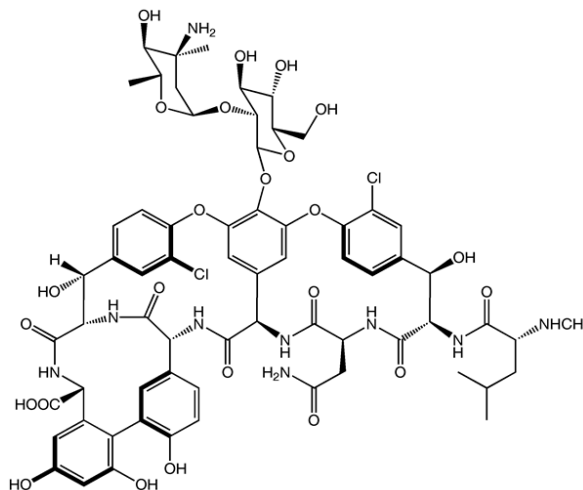
**Tabla 3. Reactivos y solventes utilizados en el análisis**

Reactivo	Descripción
Estándar vancomicina	VMC. Estándar primario USP, número de lote 1709007
Estándar cefepima hidrocloreuro	CFP. Estándar primario USP, número de lote 1097636
Acetonitrilo	LiChrosolv. Gradient grade for liquid chromatography. Merck Chile
Buffer MES	Ácido 2-(N-Morpholino)ethanesulfónico, Sigma Aldrich Chile.
Ácido fórmico	Para análisis, adquirido en Merck Chile
Metanol	Gradient grade for liquid chromatography. Merck Chile
Agua	LiChrosolv. Agua para cromatografía. Merck Chile

Los estándares utilizados fueron los siguientes:

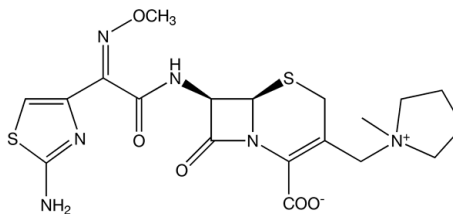
**Figura 7. Vancomicina (VMC)**

Peso molecular: 1449,3 g/mol  
 Fórmula:  $C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$   
 Potencia: 99,3%  
 Transición m/z: VMC  $725,2 \rightarrow 139,9$



**Figura 8. Cefepima clorhidrato (CFP)**

Peso molecular: 571,5 g/mol  
 Fórmula empírica:  $C_{19}H_{25}ClN_6O_5S_2 \cdot HCl \cdot H_2O$   
 Potencia: 86,5%  
 Transición m/z: CFP  $481,13 \rightarrow 85,66$



#### 4.2.1.2. Preparación de las soluciones patrones y estándares de vancomicina

Se estableció el rango de concentraciones de trabajo utilizando como referencia farmacocinética la concentración plasmática máxima alcanzada ( $C_{m\acute{a}x}$ ) luego de una administración única de 1 g de vancomicina en sujetos sanos.<sup>56</sup> Se fijó el límite inferior y superior entre el 2% y 200% de dicho valor:

Tabla 4. Rango de concentraciones plasmáticas luego de la administración de 1g de vancomicina

	Concentración plasmática (mg/L)
$C_{m\acute{a}x}$	20-50 en EE*
2% $C_{m\acute{a}x}$	0,4 – 1
200% $C_{m\acute{a}x}$	50 – 100

\*EE: Concentración en Estado estacionario

Se estableció el rango de linealidad desde 0,6 hasta 80 mg/L para la preparación de las soluciones que permitieran, posteriormente, construir la curva de calibración y los controles de calidad en plasma.

Las soluciones preparadas fueron la solución stock (solución madre de alta concentración), soluciones de trabajo (solución a partir de la solución stock, de una concentración menor para realizar diluciones), soluciones para calibrantes (soluciones de concentración conocida que al agregar al plasma blanco genera la concentración plasmática requerida para construir la curva de calibración) y soluciones para controles de calidad (solución para construir los controles de

calidad de la curva de calibración. Se preparan de igual manera que los calibrantes).

Las concentraciones plasmáticas de vancomicina necesarias para la curva de calibración y los controles de calidad se prepararon tomando 190  $\mu$ L de matriz blanco (sin vancomicina ni cefepima), y adicionando 10  $\mu$ L de las soluciones de estándar preparadas a partir de la solución stock.

Solución stock:

- Vancomicina: En una balanza analítica, se pesó exactamente 20,6 mg de vancomicina estándar USP en un matraz volumétrico de 5 mL. Se reconstituyó la solución en agua grado HPLC. Considerando la potencia del estándar (99,3%), la concentración final de la solución stock de vancomicina fue 4,09 mg/mL.
- Cefepima: En una balanza analítica se pesó exactamente 13,3 mg de cefepima estándar USP en un matraz volumétrico de 10 mL. Se preparó la solución en agua grado HPLC. Considerando la potencia del estándar (86,5%), la concentración final de la solución stock de cefepima fue 1,15 mg/mL.

Luego de preparar cada solución, los matraces se agitaron en vórtex por 10 segundos y se dejaron en baño de ultrasonido por 10 minutos para favorecer la disolución.

Solución de trabajo de vancomicina y soluciones para calibrantes:

A partir de la solución stock, se preparó una solución de trabajo la que luego permitió generar una batería de soluciones necesarias para fabricar la curva de calibración.

Las concentraciones necesarias se calcularon de la siguiente forma:

$$V_i \times C_i = V_f \times C_f \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde,

$V_i = 0,01 \text{ mL} = 10 \text{ }\mu\text{L}$ . Volumen inicial. Volumen (5% del volumen de muestra) de solución de trabajo para agregar al plasma.

$C_i$ = Concentración inicial (a calcular). Concentración de la solución de trabajo para preparar el calibrante.

$V_f = 0,2 \text{ mL} = 200 \text{ }\mu\text{L}$ . Volumen final de muestra plasmática creada.

$C_f$ = Concentración final. Concentración plasmática esperada con el 5% de solución de trabajo agregado.

Por lo tanto:

$$C_i = \frac{V_f \times C_f}{V_i}$$

La solución de trabajo fue la concentración más alta requerida para la curva de calibración (1,6g/L de VMC), sin el estándar interno. Utilizando la Ecuación 2, se calculó que se requerían tomar 2 mL de la solución stock, los que se agregaron a un matraz de vidrio color ámbar de 10 mL y se aforó con MES 0,5 M pH=6. Esta solución se llamó “solución de trabajo” de una concentración final de 1,6

$$g/L \quad V_i = \frac{V_f \times C_f}{C_i}$$

$$V_i = \frac{10 \text{ mL} \times 1600 \text{ mg/L}}{4000 \text{ mg/L}} = 2 \text{ mL}$$

A partir de ella, se realizaron diluciones a la mitad cada vez hasta llegar a la concentración más baja de la curva de calibración. Estas soluciones se prepararon tomando 5 mL de la solución de concentración 1600 mg/L con pipeta volumétrica los que se transfirieron a matraz volumétrico ámbar de 10 mL aforando con buffer MES 0,5 M pH=6 para conseguir las concentraciones finales indicadas en la Tabla 5. Luego, se agitó en vórtex por 20 segundos. Se continuó de la misma forma con las siguientes diluciones hasta llegar a la concentración de 6,25 mg/L. Se obtuvieron así 8 soluciones de vancomicina con las concentraciones indicadas en la Tabla 5 (columna  $C_i$ ).

**Tabla 5. Dilución de las soluciones de trabajo para calibrantes**

$V_f$ (ml)	$C_f$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$V_i$ (ml)	$C_i$ (mg/L) Solución de trabajo
0,2	80	0,01	1600
0,2	40	0,01	800
0,2	20	0,01	400
0,2	10	0,01	200
0,2	5,0	0,01	100
0,2	2,5	0,01	50
0,2	1,25	0,01	25
0,2	0,625	0,01	12,5

La concentración 0,625 mg/L se consideró como el límite de cuantificación (LOQ) para el análisis, el que fue determinado también de manera experimental.

Solución de trabajo de cefepima (estándar interno, IS):

Se preparó una solución de trabajo del IS a partir de la solución stock de CFP de 1,15 mg/L. Usando la Ecuación 2, se tomaron 250 $\mu\text{L}$  de la solución stock y se transfirieron a matraz volumétrico de 5 mL, completando el volumen con agua HPLC. Así, la concentración final de cefepima como estándar interno fue 57 mg/L. La adición de 10  $\mu\text{L}$  de solución de estándar interno a 200  $\mu\text{L}$  de muestras da como resultado una concentración final de 2,85 mg/L de CFP aproximadamente, la que fue igual en todas las muestras.

Soluciones estándar para los controles de calidad

Junto a cada curva de calibración se preparó un set de controles de calidad (Quality Control, QC) que sirvieron para evaluar la calidad de la curva. Según la EMA<sup>81</sup>, las concentraciones de los QC deben considerarse como sigue:

- ✓ Para el QC bajo: al menos 3 veces el LOQ. Como  $LOQ=0,625$  mg/L,  
 $QC_{bajo} \cong 2$  mg/L
- ✓ Para el QC medio: cerca del 50% del intervalo de la curva  $\cong 30$  mg/L
- ✓ Para el QC alto: un 75% de la concentración más alta de la curva  $\cong 60$  g/L

En la Tabla 6 se muestra que a partir de las soluciones stock y usando la Ecuación 2, se necesitó preparar una solución de 1200 mg/L para el QC alto; 600 mg/L para el QC medio y 40 mg/L para el QC bajo para fortificar la matriz blanco que permitiera generar las muestras de 60, 30 y 2 mg/L, respectivamente.

**Tabla 6. Volumen de solución stock para generar los QC**

Nivel	$V_f$ (mL)	$C_f$ (mg/L)	$C_i$ (mg/L)	$V_i$ (mL) de solución stock
QC alto	5	1200	4000	1,50
QC medio	5	600	4000	0,75
QC bajo	5	40	4000	0,05

Se tomaron los volúmenes de solución stock ( $V_i$ ) indicados en la Tabla 6, los que fueron transferidos a matraz de 5 mL y enrasado con el buffer MES.

Luego, se agregaron 10  $\mu$ L al plasma blanco para alcanzar las concentraciones de vancomicina teóricas finales en las muestras QC de 2, 30 y 60 mg/L para el QC bajo, QC medio y QC alto, respectivamente.

#### **4.2.1.3. Conservación de las soluciones preparadas**

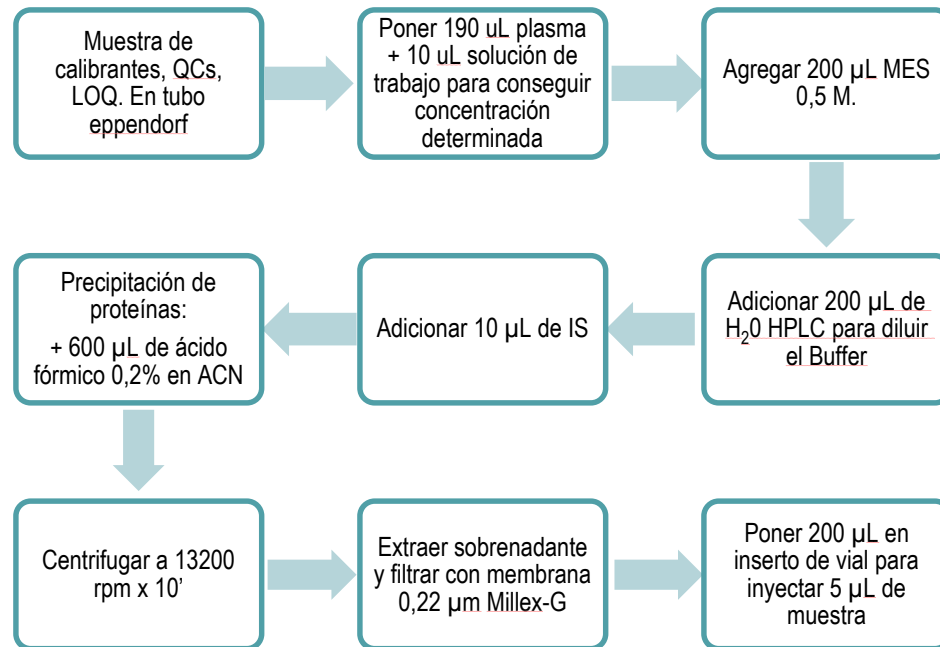
Todas las soluciones preparadas previamente mencionadas se fraccionaron en tubos *eppendor* limpios herméticamente cerrados, se rotularon con información del nombre del principio activo, solvente usado, fecha de preparación y se almacenaron en *freezer* a  $-35^{\circ}\text{C}$ , protegidas de la luz.

#### **4.2.1.4. Preparación de las muestras y extracción**

Para la extracción, las muestras de plasma preparadas se sometieron a precipitación de proteínas con acetonitrilo. Se centrifugaron, se filtraron con filtro Millex® 0,22 $\mu$ m y se tomaron 5  $\mu$ L del sobrenadante como volumen de muestra para inyectar en el equipo. En la Figura 9 se muestran las etapas del proceso.



**Figura 9. Metodología para el tratamiento de muestras plasmáticas y de extracción**



#### **4.2.1.5. Curva de calibración**

Para las curvas de calibración se prepararon las siguientes muestras:

- Una muestra blanco: 200 µL de plasma sin estándar interno.
- Una muestra cero: 200 µL de plasma blanco, más 10 µL del IS
- Ocho muestras de calibrantes: 190 µL de plasma blanco, más 10 µL de la solución estándar de trabajo, correspondientes a la curva de calibración para obtener concentraciones teóricas de 0,625 – 1,25 – 2,5 – 5 – 10 – 20 – 40y 80 mg/L de VMC en plasma (Tabla 5). Se procedió de igual forma para los tres QC (bajo, medio y alto), utilizando los volúmenes de “solución estándar para QC” según Tabla 6.

#### **4.2.1.6. Equipamiento y condiciones de análisis por cromatografía líquida de ultra resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS)**

Se utilizó un sistema de *Ultra Performance Liquid Chromatography – tandem mass spectrometer* UPLC-MS/MS, marca ACQUITY®.

El sistema cromatográfico utilizado contó con un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo (Waters Corp., Milford, MA) detector Quatro Micro API modelo ESCI *Multimode-ionization* y el software MassLynx v.4.1 para la adquisición de datos. La separación se realizó por columna ACQUITY UPLC BEH® C18 (2,1 x 100 mm, 1,7 µm de tamaño de partícula) equipada con una pre-columna también C18.

Para conocer las condiciones de trabajo, los iones padres e hijos, voltaje de cono y la energía de colisión fueron ajustados y optimizados al realizar varias infusiones automáticas de una solución del analito de 1 mg/L en una mezcla de ácido fórmico (0,1%)/acetonitrilo 50/50 v/v. El UPLC-MS/MS se hizo funcionar con un voltaje capilar de 1,00 kV. Las temperaturas de la fuente y del gas de solvatación (nitrógeno ultra puro) fueron de 140°C y 400°C, respectivamente. El nitrógeno se dejó a una velocidad de flujo de 800 mL/h.

Para cada compuesto, se siguieron dos transiciones. Una transición se utilizó para la cuantificación (el cuantificador), y la otra transición se utilizó para la

identificación (el calificador). Los datos fueron adquiridos utilizando el software MassLynx v.4.1 y se procesaron utilizando el software QuanLynx v.4.1 (Waters Corp.)

En la Tabla 7 se resumen las principales condiciones de trabajo para la determinación de cefepima (estándar interno) y vancomicina, que fueron luego utilizadas para la validación y posterior cuantificación en las muestras plasmáticas de los pacientes reclutados en el estudio.

**Tabla 7. Condiciones para el análisis por UPLC-MS/MS**

<b>Parámetros</b>	<b>Condiciones seleccionadas</b>
<b>Equipo</b>	ACQUITY™ UPLC (Ultra Performance LC system. Waters, Milford, MA, USA)
<b>Columna</b>	ACQUITY UPLC® BEH C18; 2.1 x 100 mm, 1.7µm
<b>Fase móvil</b>	Ácido fórmico 0,1% en agua: ácido fórmico 0,1% en acetonitrilo. Relación 90:10 v/v
<b>Flujo</b>	0,1 mL/min, isocrático
<b>Detección</b>	Ionización modo positivo (Modo ESI +)
<b>Transición m/z de monitoreo</b>	VMC $725,2 \rightarrow 139,9$ y CFP $481,1 \rightarrow 85,6$
<b>Energía del cono</b>	VMC: 20 V y CFP: 35 V
<b>Energía de colisión</b>	VMC: 15 V y CFP: 14 V
<b>Volumen de inyección</b>	5 µL de muestra procesada
<b>Temperatura columna</b>	40°C
<b>Temperatura autosampler</b>	4°C
<b>Tiempos de retención</b>	VMC = 2,83 min – CFP= 2,82 min
<b>Tiempo de corrida</b>	5,5 minutos
<b>Tiempo entre inyección</b>	1 minuto (para re-equilibrio)

#### 4.2.1.7. Análisis de los datos para validación

Se utilizó el programa Microsoft Excel 2010(para la construcción de gráficos de las áreas obtenidas de cada *peak* y para registrar los resultados en el análisis de las muestras. Se obtuvieron los parámetros selectividad, linealidad, límite de detección, límite de cuantificación, precisión y exactitud intra-día, precisión y exactitud intrer-día y estabilidad en la determinación de vancomicina en plasma humano fabricando muestras para las curvas de calibración (calibrantes), muestras del límite de cuantificación (LOQ) y muestras para controles de calidad (QC) como ha sido descrito previamente.

La cuantificación de vancomicina se realizó con el método de estándar interno, por lo que se utilizó la razón de área entre VMC y CEF de cada muestra para calcular la concentración de VMC, ajustando los datos a una regresión lineal:

$$y = ax + b \text{Ecuación 3}$$

Donde:

y= razón de área (RA) entre el analito (VMC) y el IS (RA= área VMC/área CFP)

a= intercepto de la curva

b= pendiente de la curva

x= concentración plasmática del analito [VMC] en mg/L

La desviación estándar (DE) se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$DE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_{prom})^2}{n-1}} \text{Ecuación 4}$$

El coeficiente de variación (CV) se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$CV = \frac{DE}{promedio} \times 100 \text{Ecuación 5}$$

Para cada nivel de concentración, el CV debía ser menor al 15%, excepto para la concentración más baja, donde se acepta un CV menor al 20%.

La exactitud se calculó de acuerdo al error relativo:

$$\text{Exactitud} = \frac{[analito]_{obtenida}}{[analito]_{nominal}} \times 100 \text{Ecuación 6}$$

#### 4.2.1.8. Parámetros de validación

Tanto en plasma como en el líquido ultrafiltrado se realizaron las pruebas de validación mediante los parámetros siguientes:

a) *Selectividad*: Se compararon las lecturas de muestras blanco, respecto a muestras de estándares y muestras con estándares. Se utilizaron 6 fuentes diferentes de plasma de aspecto normal. Entre ellas, se consideró un plasma lipémico (plasma obtenido después de haber ingerido una comida hipergrasa) y uno hemolizado (sangre recolectada en tubo con anticoagulante, sometida a un

ciclo de congelamiento/descongelamiento y centrifugación). Todas las muestras se procesaron según el método descrito en el ítem 4.2.1.4, Figura 9, pero sin la adición de los analitos. Aquellos plasmas que no tuvieran señales de interferencia a los tiempos de retención de VMC y CFP (entre los 2,5 y 2,9 minutos) fueron seleccionados para construir una matriz única que sirvió para generar las muestras en el proceso de validación. Este nuevo plasma fue también re-analizado con el fin de asegurar que no tuviera señales de interferencia en dichos tiempos de la corrida cromatográfica.

b) *Linealidad*: Para evaluar la linealidad del sistema en plasma, se prepararon los calibrantes en quintuplicado. Todos fueron inyectados dos veces y se consideró el promedio de las inyecciones como el valor final de cada calibrante. Las concentraciones evaluadas fueron las descritas en la curva de calibración en el ítem 4.2.1.5. Se evaluó la DE y el CV según lo definido.

c) *Límite de detección (LOD)*: Correspondió aproximadamente 3 veces el ruido. Se graficó la razón de área de VMC/CFP versus la desviación estándar de cada calibrante de la curva creada para evaluar la linealidad, para luego utilizar la siguiente ecuación:

$$\text{LOD teórico} = \frac{Y_{\text{blanco}} + F \times DE_{\text{blanco}}}{m} \text{Ecuación 7}$$

Donde,

$$F = 3$$

m= pendiente de la curva calculada a partir de todos los puntos de la curva de linealidad.

$Y_{\text{Blanco}}$ = Estimación de la respuesta a concentración cero. Intercepto de curva obtenida de la regresión lineal entre la concentración y la razón de área del VMC/CFP.

$DE_{\text{Blanco}}$ = Desviación estándar de la respuesta a concentración cero. Intercepto de la curva entre la concentración y la desviación estándar de la relación de área de cada nivel, obtenido gráficamente.

Finalmente, se comparó la señal obtenida de las muestras de plasma cero a los tiempos de retención de vancomicina, respecto a la relación de área promedio del LOD obtenido para evaluar si la relación era  $\geq 3$ .

$$\frac{RA_{\text{LOD}}}{RA_{\text{muestra cero}}} \geq 3 \text{ Ecuación 8}$$

d) *Límite de cuantificación (LOQ)*: Se consideró la concentración plasmática más baja establecida en la curva de linealidad del sistema (0,625 mg/L de vancomicina). LOQ es la menor cantidad de analito que el método es capaz de cuantificar con precisión y exactitud. La respuesta para el LOQ debe corresponder a más de 10 veces la respuesta de la muestra cero y el CV debe ser menor al 20%. El error relativo debe estar entre el 80 y 120%.

$$\frac{RA_{LOQ}}{RA_{muestra\ cero}} \geq 10 \text{Ecuación 9}$$

e) *Precisión y exactitud intra-día:* Se prepararon 5 muestras frescas de cada QC en sus tres niveles de concentración plasmática de los analitos: 5 muestras de QC bajo (2 mg/L), 5 muestras de QC medio (30 mg/L) y 5 muestras de QC alto (60 mg/L), y adicionalmente 5 muestras del nivel más bajo de la linealidad (LOQ, 0,625 mg/L). Se trataron las muestras según metodología descrita e inyectaron dos veces cada una. Se preparó una curva de calibración (linealidad del sistema) para interpolar la relación de área obtenida en cada muestra y obtener así las concentraciones experimentales. Se compararon estos valores obtenidos con el valor teórico y se calculó el % de error relativo para cada nivel de concentración y además, se calculó el coeficiente de variación (%) a partir de las concentraciones experimentales. El porcentaje de exactitud debe encontrarse entre 85 y 115% y el CV (%) menor o igual a 15%.

f) *Precisión y exactitud inter-día:* Se prepararon 5 muestras frescas de plasma fortificado con cantidades conocidas de VMC, en los tres niveles de QC y el LOQ. Se trataron las muestras según metodología descrita en 4.2.1.4 e inyectaron 2 veces cada una.



Al igual que el ítem anterior, se preparó una curva de linealidad del sistema para interpolar la relación de áreas obtenida en cada muestra con el fin de obtener las concentraciones experimentales. Se repitió esta operación dos veces más en iguales condiciones completando un mínimo de tres días, distribuidos en dos días de una semana y un tercer día a la semana siguiente. Para la precisión inter día se calculó el coeficiente de variación (%) entre los 3 días de análisis a partir de las concentraciones experimentales. Para evaluar la exactitud inter día, se compararon los valores obtenidos con el valor teórico y calculó el % de error relativo para cada nivel de concentración, para cada día de análisis.

*g) Recuperación relativa:* Se calculó primero la concentración teórica de VMC y del IS en las muestras antes y después de la extracción en 3 niveles de concentración. La recuperación no necesita ser del 100% tanto para los analitos como el estándar interno, pero sí debe ser precisa y reproducible, con un CV <15%. Mientras más próximo al 100%, más efectivo es el método de recuperación/extracción.

Se prepararon soluciones acuosas de igual concentración a las alcanzadas en plasma. Éstas representarán el 100% de la recuperación. Luego, se prepararon las mismas concentraciones en plasma, las que se sometieron a extracción. Se comparó la relación de área de ambas muestras para cada nivel evaluado.

Finalmente, con los datos obtenidos se calculó el CV y el % de recuperación para cada nivel.

f) *Estabilidad: Según literatura, vancomicina es un antibiótico muy estable en solución por más de 70 días refrigerado a 4°C.<sup>82,83,84</sup> Eso permite que una preparación extemporánea para su administración oral pueda ser almacenada refrigerada durante 1 semana para su uso oral en tratamiento de colitis pseudomembranosa por *Clostridiumm difficile*. Esta estabilidad podría ser mayor si el almacenamiento es a -80°C incluso en plasma.<sup>85</sup>Se estudió usando dos niveles de concentración (QC bajo, de 2 mg/L, y QC alto de 60 mg/L, por triplicado cada uno). Se estudió la estabilidad de vancomicina en plasma.*

- Estabilidad a corto plazo: Se prepararon plasmas de QC bajo y QC alto, los que se analizaron a tiempo cero (T0) y luego de transcurridas  $\pm$  6 horas (T6) a temperatura ambiente. Se determinó el CV para cada nivel, el cual debe ser menor al 15%. Se calculó el error relativo de cada nivel, considerando como 100% el T0. El rango aceptado fue 85 a 115%.
- Estabilidad por ciclos de congelamiento/descongelamiento: Estabilidad después de tres ciclos de congelamiento/descongelamiento. Se prepararon 12 muestras por nivel de concentración (QC bajo y QC alto). Las primeras tres muestras de cada nivel se inyectaron para análisis y se consideraron como tiempo cero y el resto de plasma fortificado se almacenó a -35°C durante 24 horas. Luego, se descongelaron todas las muestras a

temperatura ambiente, de las que se analizaron 3 de cada nivel. Las demás volvieron a congelarse cumpliendo así con el primer ciclo. Posteriormente, se congeló nuevamente el resto del plasma a  $-35^{\circ}\text{C}$  y se repitió esta operación dos veces más para completar los tres ciclos de congelamiento/descongelamiento. Se determinó el coeficiente de variación y de error relativo de cada nivel considerando el tiempo cero como el 100% de estabilidad.

- Estabilidad a largo plazo: Se prepararon plasmas de QC bajo y QC alto, los que se analizaron a tiempo cero (T0) y luego de transcurridas 1 semana (T1), dos semanas (T2) y tres semanas (T3) de almacenamiento a  $-35^{\circ}\text{C}$ . Se determinó el CV para cada nivel ( $< 15\%$ ) y calculó el % de error relativo de cada nivel, considerando como 100% el T0 (dicho valor debe estar entre 85 a 115%).
- Estabilidad en el *autosampler*: Las muestras de QC bajo y alto que fueron analizadas (T0) permanecieron en el *autosampler* por 24 horas, las que luego fueron re-inyectadas. Se compararon las RA respecto al valor inicial y se determinó el CV para cada nivel y el % de error, tomando en cuenta el T0 como 100% de estabilidad.
- Estabilidad de la solución stock: Posterior a la preparación se inyectó por triplicado cada solución (T0). Se dejó una porción de las soluciones a temperatura ambiente y otra porción refrigerada a  $-35^{\circ}\text{C}$  por un período de 24 horas. Después de transcurrido ese tiempo, se inyectaron ambas

porciones por triplicado y se repitió esta operación a las 48 horas. Se calculó el CV para cada repetición de muestras y calculó el % de error de cada tiempo, considerando el T0 como 100% de estabilidad.

#### **4.2.2. ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS**

Las muestras de los pacientes reclutados que permanecieron almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  se descongelaron a temperatura ambiente para proceder con el método de análisis. Para ello, se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de plasma de cada una y se procedió de igual forma que lo indicado en el proceso de extracción descrito en el punto 4.2.1.4 sin la adición de la solución de trabajo de vancomicina.

Todas las muestras fueron inyectadas en duplicado, considerando como valor final el promedio entre ambas mediciones.

El día de análisis de las muestras se realizó una curva de calibración junto a sus controles de calidad para hacer la cuantificación de vancomicina. De esta forma, cada set de muestras analizadas tuvo su propia condición de análisis.

Se construyó una base de datos para registrar las razones de área VMC/CFP de cada muestra y se calculó la concentración de vancomicina empleando la curva de calibración, relacionándolos con los tiempos de muestreo.

Se obtuvieron así los perfiles de concentración plasmática total de vancomicina  $[\text{VMC}]_{\text{plasma}}$  versus tiempo para cada paciente, lo que permitió continuar con el análisis farmacocinético de los datos experimentales.

### 4.3 ETAPA FARMACOCINÉTICA

Se utilizaron los datos de concentración plasmática total de vancomicina pre-filtro versus tiempo. Dado que vancomicina es un antibiótico considerado de bajo a mediano porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, y que todos los trabajos de monitorización de niveles plasmáticos informan concentración plasmática total, no se aplicó ningún factor de corrección al valor de concentración plasmática calculado.

Se realizó inicialmente un análisis por paciente y posteriormente, se procedió con el análisis poblacional.

Se tomó en cuenta la concentración plasmática valle necesaria para la eficacia terapéutica de vancomicina a partir de la información disponible en la literatura. Esta concentración debe alcanzar un valor entre 15 y 20 mg/L en pacientes críticos, la que está fuertemente relacionada con la obtención de una relación entre área bajo la curva de 24 horas de la concentración plasmática de vancomicina versus tiempo sobre la CIM mayor que 400 ( $ABC_{24h}/CIM > 400$ ).<sup>64</sup> Estos parámetros PK/PD se utilizaron como criterio de evaluación para determinar las concentraciones plasmáticas efectivas en los posteriores análisis.

#### 4.3.1. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO INDIVIDUAL

Se construyó una base de datos de las  $[VMC]_{\text{plasmáticas}}$  versus tiempo de muestreo. Se utilizó el programa Microsoft Excel® 2010 junto a los complementos de funciones pk1 y pk2 para el análisis farmacocinético.

Para cada paciente, se realizó el análisis considerando la administración de vancomicina por infusión intravenosa de 1 hora con cinética de orden cero, y un modelo de 1 compartimento. Para cada paciente, la obtención de los parámetros farmacocinéticos requirió la linealización de los datos trabajando en ejes semilogarítmicos, tomando los últimos puntos de cada curva de los datos del gráfico  $\text{Ln } [VMC]$  versus tiempo. Los parámetros calculados fueron la constante de velocidad de eliminación ( $K_{el}$ ), tiempo de vida media de eliminación ( $T_{1/2}$ ) y *clearance* total (CL). El área bajo la curva de la concentración plasmática versus tiempo de 0 a 12 horas ( $ABC_{12h}$ ) y con ello el de 0 a 24 horas ( $ABC_{24h}$ ) se calculó con el método de los trapecios.

La concentración máxima ( $C_{\text{máx}}$ ) y mínima ( $C_{\text{mín}}$ ) del periodo de dosificación fueron los valores observados de la curva  $[VMC]$  versus tiempo. Luego, se consideró el análisis de todos los datos para obtener una descripción grupal, con estadística descriptiva.

#### **4.3.2. COEFICIENTE DE TAMIZAJE DE VANCOMICINA ENHFAV**

El coeficiente de tamizaje o *sieving coefficient* (SC) se calculó a partir de la Ecuación 1 considerando las concentraciones plasmáticas de vancomicina antes del filtro de hemofiltración (muestras pre-filtro) y las concentraciones de vancomicina en el líquido ultra filtrado al salir del filtro (post-filtro)

La relación entre ambas concentraciones de vancomicina a los diferentes tiempos de muestreo se calculó en cada paciente, y luego en forma global.

Los datos se presentan en promedio  $\pm$  desviación estándar. Los gráficos de concentración plasmática se realizaron con el programa GraphPad Prism versión 5.03 para Windows (GraphPad Software, San Diego California EE.UU).

#### **4.3.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO POBLACIONAL**

Se construyó una nueva base de datos en una planilla de Microsoft Excel® con un formato especial como se muestra en la Figura 10, requerido para el análisis no lineal de efectos mixtos usando el paquete estadístico NONMEM® 7.0 (Globomax LLC, EE.UU. Licencia de la University of Queensland) junto a un programa complementario como editor de lenguaje de programación FORTRAN (*Formula Translating System*). La información de cada paciente incluida en el análisis fue: dosis previas (si las hubiera), dosis administrada, velocidad y vía de administración, tiempo (hora) de muestreo y concentración plasmática

medida. Además, variables obtenidas de la caracterización de cada paciente como el peso, IMC, edad, sexo, índice APACHE II, índice SOFA, concentración de creatinina plasmática. Por último, se incluyeron parámetros del procedimiento como flujo de sangre (Qb) de la HFAV, velocidad de HFAV y tamaño de filtro. Todo lo anterior fue considerado como posible covariable. El análisis de toda la información de los pacientes se desarrolló en etapas secuenciales para la construcción de un modelo farmacocinético que explicara los datos experimentales obtenidos.

**Figura 10. Base de datos para análisis poblacional por NONMEM®**

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
	#ID	AMT	RATE	TIME	DV	MDV	EVID	CMT	AGE	WT	BMI	SeCr	QB	HVHF	SxHF	Filtre	SOFA	APAC	Sex	
1	1	1000	1000	0	0	1	1	1	68	104.7	49.8	1.8	220	69	0	1	8	23	0	
2	1	1000	1000	18	12.47	1	1	1	68	104.7	49.8	1.9	220	69	0	1	8	23	0	
3	1	.	.	18.33	42.81	0	0	1	68	104.7	49.8	1.1	220	69	1	1	8	23	0	
4	1	.	.	18.67	72.85	0	0	1	68	104.7	49.8	1.12	220	69	1	1	8	23	0	
5	1	.	.	19	80.53	0	0	1	68	104.7	49.8	1.13	220	69	1	1	8	23	0	
6	1	.	.	20	73.95	0	0	1	68	104.7	49.8	1.14	220	69	1	1	8	23	0	
7	1	.	.	21	54.82	0	0	1	68	104.7	49.8	1.15	220	69	1	1	8	23	0	
8	1	.	.	24	35.34	0	0	1	68	104.7	49.8	1.16	220	69	1	1	8	23	0	
9	1	.	.	30	29.63	0	0	1	68	104.7	49.8	1.17	220	69	1	1	8	23	0	
10	2	1000	781.3	0	0	1	1	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	0	0	8	28	0	
11	2	.	.	0.75	27.46	0	0	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	1	0	8	28	0	
12	2	.	.	1	33.5	0	0	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	1	0	8	28	0	
13	2	.	.	1.28	35.5	0	0	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	1	0	8	28	0	
14	2	.	.	2	22.45	0	0	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	1	0	8	28	0	
15	2	.	.	3	15.45	0	0	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	1	0	8	28	0	
16	2	.	.	4	14.19	0	0	1	76	55.3	23.02	2.9	220	123	1	0	8	28	0	
17	2	.	.																	

ID: paciente. AMT: dosis. RATE: velocidad de administración. TIME: tiempo de muestreo. DV: (*Dependant variable*) concentración plasmática de vancomicina. MDV: (*missing dependant variable*).EVID: (*event identification*) identificación del evento, en este caso, la administración de la dosis. CMT: compartimento de la muestra. AGE: edad del paciente. WT: peso del paciente. BMI: índice de masa corporal. SeCr: creatininemia. QB: flujo de sangre. HVHF: velocidad de hemofiltración. SxHF: muestra de la hemofiltración (0= sin muestra, 1= muestra cuantificable). Filtre: tamaño del filtro. SOFA: índice SOFA. APAC: índice APACHE II. Sex: sexo del paciente.



Inicialmente, se evaluó el comportamiento de los datos desde el punto de vista compartimental, evaluando el comportamiento de ajuste para 1, 2 ó más compartimentos. La variabilidad entre sujetos (*between subject variability, BSV*) se estudió en todos los parámetros, usando un modelo de variabilidad exponencial. Para la variabilidad residual (*residual unexplained variability, RUV*), se evaluó si era un modelo de error exponencial, aditivo o combinado.

Se utilizó como criterio de selección en el desarrollo del modelo farmacocinético, una disminución de al menos 3,84 unidades del valor objetivo de la función (*objective function value, OFV*) en cada intento de modelo para demostrar una mejora estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ , distribución  $\chi^2$ ). Además, se utilizó la inspección visual del gráfico de bondad de ajuste, hasta encontrar una correlación adecuada ( $R^2 > 0,6$ ).<sup>67</sup>

Se evaluó el efecto de cada covariable antes descrita que pudiera tener significancia en la construcción del modelo, los que se estudiaron uno a uno para cada parámetro farmacocinético, según la cantidad de compartimentos. Las representaciones gráficas de correlación sirvieron como guía para luego someterlo a evaluación estadística y preseleccionarlo como posible covariable en la construcción del modelo final.

Finalmente, la robustez del modelo se confirmó con los criterios de aceptación antes descritos, para luego someter el modelo a una prueba de *Bootstrap* con

1000 iteraciones y con ello evaluar la variabilidad de los parámetros farmacocinéticos que el modelo fue capaz de describir.

Los resultados se analizaron con estadística descriptiva y se presentaron como promedio  $\pm$  DE. Se utilizaron los programas Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, EE.UU) y GraphPad Prism versión 5.03 para Windows (GraphPad Software, San Diego California EE.UU) para procesar y generar tablas, gráficos y figuras.

Finalmente, a partir de los parámetros farmacocinéticos que el modelo poblacional generó, se calcularon otros parámetros de vancomicina como el tiempo de vida media de eliminación (Ecuación 10), la constante de velocidad de eliminación (Ecuación 11) y el área bajo la curva de la concentración plasmática versus tiempo, ABC, (Ecuación 12), respectivamente.

$$T_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{K_{el}} \quad \text{Ecuación 10}$$

$$K_{el} = \frac{Cl}{Vd} \quad \text{Ecuación 11}$$

$$ABC = \frac{dosis}{CL} \quad \text{Ecuación 12}$$

#### 4.3.4. SIMULACIÓN FARMACOCINÉTICA DE DOSIS

El modelo farmacocinético final de vancomicina en este grupo de pacientes fue utilizado para simular diversos perfiles de concentraciones plasmáticas en el tiempo considerando algunas condiciones de la HFAV.

Para ello, se identificaron posibles formas de administración tanto por velocidad y frecuencia. Se graficaron los perfiles simulados de cada situación y se seleccionaron aquellos que permitían alcanzar las concentraciones valle y *peak* adecuadas, según las condiciones PK/PD de efectividad de vancomicina en el paciente crítico. Las simulaciones se realizaron considerando un peso promedio de paciente de 70 kg (peso promedio de los pacientes de la muestra) y a distintas velocidades de HFAV.

Se simularon las concentraciones plasmáticas alcanzadas con dosis de carga, dosis de mantención y dosis para infusión continua, según las posibles formas de administrar vancomicina.

El criterio de selección de las dosis fue alcanzar las concentraciones valle entre 15 – 20 mg/L<sup>64</sup> para la dosis de carga y la dosis de mantención, y una concentración permanente de 20-30 mg/L para la infusión continua.<sup>86</sup> Estas concentraciones son las recomendadas en paciente crítico.

Se estudió también la duración de la administración para la dosis de carga y la dosis de mantención con el objetivo de no obtener concentraciones tóxicas, ya

que una  $C_{\text{máx}}$  elevada está relacionada con nefro y ototoxicidad.<sup>56</sup> Se seleccionaron las dosis para distintas velocidades de HFAV que cumplieran los criterios antes mencionados.

Los gráficos de concentración plasmática versus tiempo se realizaron con el programa GraphPad Prism versión 5.03 para Windows (GraphPad Software, San Diego California EE.UU).

---

## **5. Resultados y discusión**

---

Con la metodología realizada se dio respuesta a los objetivos propuestos en cada etapa del estudio.

Se presentan los resultados de las tres etapas del estudio:

5.1 Etapa clínica

5.2 Etapa analítica

5.3 Etapa farmacocinética

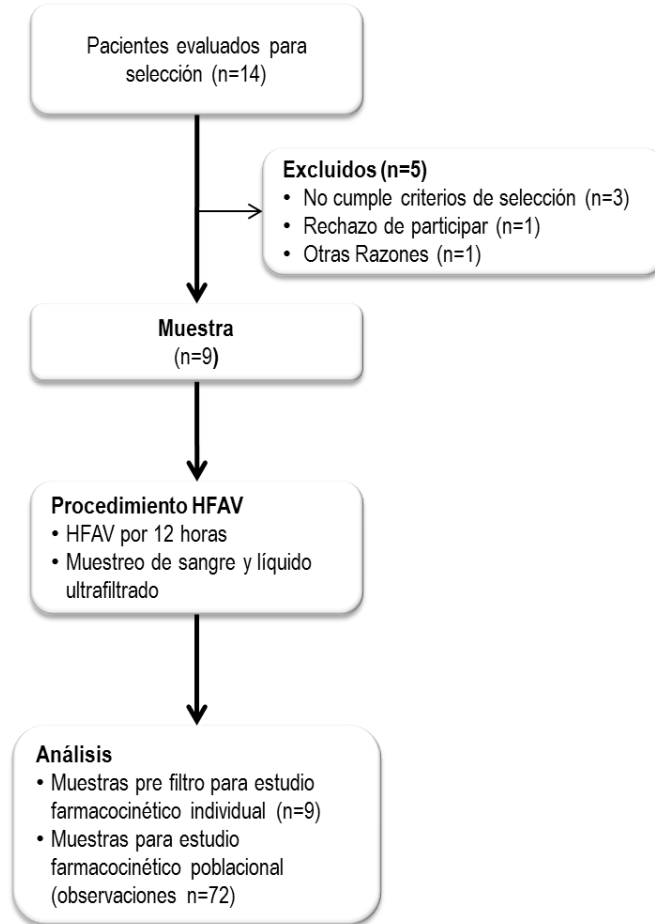
## **5.1. ETAPA CLÍNICA**

Los pacientes fueron reclutados a medida que surgían los casos entre julio de 2011 y julio de 2012. No hubo restricción de horario ni día de la semana para el muestreo. La tasa de reclutamiento fue en promedio 1 paciente/mes.

### **5.1.1. CARACTERIZACIÓN DE LOS PACIENTES**

Debido a que la HFAV como tratamiento de rescate hemodinámico no es muy frecuente en UCI, sólo 14 pacientes críticamente enfermos con shock séptico fueron candidatos para el estudio de acuerdo a los criterios de selección. De ellos, nueve fueron reclutados. El retiro de pacientes fue por término anticipado de la HFAV, y por pérdida de muestras plasmáticas en el lugar de almacenamiento que impidieron el análisis farmacocinético posterior, lo que quedó descrito como “otras razones”. En la Figura 11 se describe el proceso de selección, seguimiento y análisis de los pacientes que participaron en el estudio. A los nueve pacientes se les tomaron muestras de sangre y líquido ultrafiltrado en los tiempos descritos. Debido a la falla renal, no fue posible obtener muestras de orina representativas durante el periodo de HFAV.

**Figura 11. Diagrama de flujo para la selección de los pacientes**



En la Tabla 8 se señalan las características promedio de la muestra de pacientes seleccionada. De los 9 pacientes, cinco fueron hombres. El promedio de edad de los pacientes reclutados fue  $57 \pm 14$  años. El peso promedio observado fue  $70 \pm 18$  Kg y el IMC fue  $27 \pm 9$  Kg/m<sup>2</sup>. Tres pacientes estuvieron anúricos y 6 oligúricos al iniciar la HFAV además de tener creatininemia elevada, dando cuenta de un importante deterioro de la función renal en todos ellos.

Todos los pacientes requirieron HFAV como terapia de rescate hemodinámico y renal por sepsis severa y shock séptico. Como ha sido descrito, ambas entendidas son muy prevalentes en UCI.<sup>8</sup>

La prescripción de vancomicina ocurrió principalmente como terapia empírica, junto a otros antibióticos como β-láctámicos para ampliar el espectro de acción. Esta terapia comenzó en todos los pacientes sin agente infeccioso aislado, según las recomendaciones de iniciar tempranamente la administración de antimicrobianos para mejorar el desenlace clínico.<sup>28</sup>

En promedio, los índices SOFA y APACHE II fueron elevados, los que reflejan el estado de gravedad de los pacientes al momento de recibir la HFAV. Para ambas escalas, se entiende un porcentaje elevado de mortalidad, que en este caso fue >75%.

**Tabla 8. Características de la muestra de pacientes**

n		Promedio ± DE [rango]	
<b>Sexo</b>		<b>Edad (años)</b>	57±14 [37 – 76]
Hombre	5	<b>Peso (Kg)</b>	70±18 [49 – 104]
Mujer	4	<b>IMC (Kg/m<sup>2</sup>)</b>	27±9 [19,7 – 49,8]
<b>Diagnóstico principal</b>		<b>SOFA</b>	11,4±3,9 [6 – 17]
Shock séptico	9	<b>APACHE II</b>	30,8±5,6 [23 – 41]
<b>Foco de infección</b>		<b>Creatininemia (mg/dL)</b>	2,5±1 [1,14 – 4,16]
Abdominal	4	<b>Condiciones de la HFAV</b>	
Pulmonar	3	Qb (mL/min)	240±15 [220 – 250]
Otro (piel, amígdala)	2	Dosis HFAV (L/h)	6,7±1,2 [5 – 9]
<b>Complicaciones en UCI</b>		Vol. Sust (mL/Kg/h)	100±18 [69 – 123]
FRA anúrica	6	Balance hídrico (mL)	Neutro
FRA oligúrica	3		
Sobrevivida a 28 días	3		

FRA: Falla renal aguda. IMC: índice de masa corporal. Qb: flujo de sangre. HFAV: Hemofiltración de alto volumen



Todos los pacientes recibieron 1000 mg de vancomicina/día (Hospira®, polvo liofilizado para solución) que fue reconstituido en 100 mL de suero fisiológico y administrado en una infusión de 1 hora por catéter venoso central mediante una bomba automática de infusión.

Comparado con los datos de la encuesta de prevalencia de sepsis en Chile, publicada el año 2007,<sup>2</sup> la muestra de pacientes aquí seleccionados estaban en un estado de salud de mayor gravedad (APACHE II:  $30,8 \pm 5,6$  versus  $18,2 \pm 6,4$  y SOFA:  $11,3 \pm 3,9$  versus  $8,0 \pm 4,1$  respectivamente). Debido a su inestable condición, la HFAV se utilizó como terapia de rescate hemodinámico.<sup>37,39</sup>

En la Tabla 9 se resumen las características de cada paciente y se describen las condiciones del proceso de hemofiltración que recibieron.

Las condiciones de la HFAV se establecieron en forma particular según los requerimientos de los pacientes. La velocidad de hemofiltración de alto volumen fue en promedio  $100 \pm 18$  mL/Kg/h, observándose un valor mínimo de 69 mL/Kg/h y un máximo de 123 mL/Kg/h. Este valor la define como una hemofiltración de alto volumen con mayor velocidad de filtración que las terapias de reemplazo renal convencionales.

En la actualidad existen pocos trabajos que analizan el efecto sobre medicamentos de la HFAV con una velocidad  $>50$  mL/Kg/h.<sup>48</sup> La mayoría de los trabajos describen los cambios farmacocinéticos en TRR a bajas velocidades.

**Tabla 9. Características de los pacientes estudiados. N=9**

# ID	Sexo	Edad (años)	Peso (Kg)	IMC (Kg/cm <sup>2</sup> )	APACHE II	SOFA	Foco de infección	Flujo sangre QB (mL/min)	Dosis HVHF (L/h)	Veloc. sustitución mL/Kg/h	Tamaño filtro	Oliguria/anuria	Creatinemia (mg/dL)	Días UCI	Complicaciones en la UCI
1	F	68	104,7	49,80	23	8	Amigdaliano	220	7	69	M	sí	1,79	28	FRA, FOM
2	F	76	55,3	23,02	28	8	Abdominal	220	7	123	M y L	sí	2,9	10	NA grave. Shock foco pulmonar
3	M	60	70,0	24,80	31	16	Abdominal	250	6	86	M y L	sí	3,56	11	SDRA
4	F	56	52,0	22,51	39	11	NET, cutáneo	250	5	96	M	sí	1,32	2	Hipernatremia, pancitopenia, FRA anúrica
5	M	52	74,0	24,44	41	15	Pulmonar	250	7	95	M	sí	3,3	2	FOM, CID, falla hepática, FRA oligoanúrica
8	M	75	70,0	26,67	30	11	Abdominal	250	7	100	M	sí	4,16	15	SDRA, FRA
9	M	53	85,0	29,41	28	17	Pulmonar	250	9	106	L	sí	1,14	4	SDRA
11	F	37	48,9	19,68	30	10	Abdominal	250	5	104	M	sí	1,96	2	FRA oligoanúrica, coagulopatía
14	M	40	66,5	21,96	28	6	Pulmonar	220	7	105	L	sí	2,40	4	FOM, CID, FRA oligoanúrica

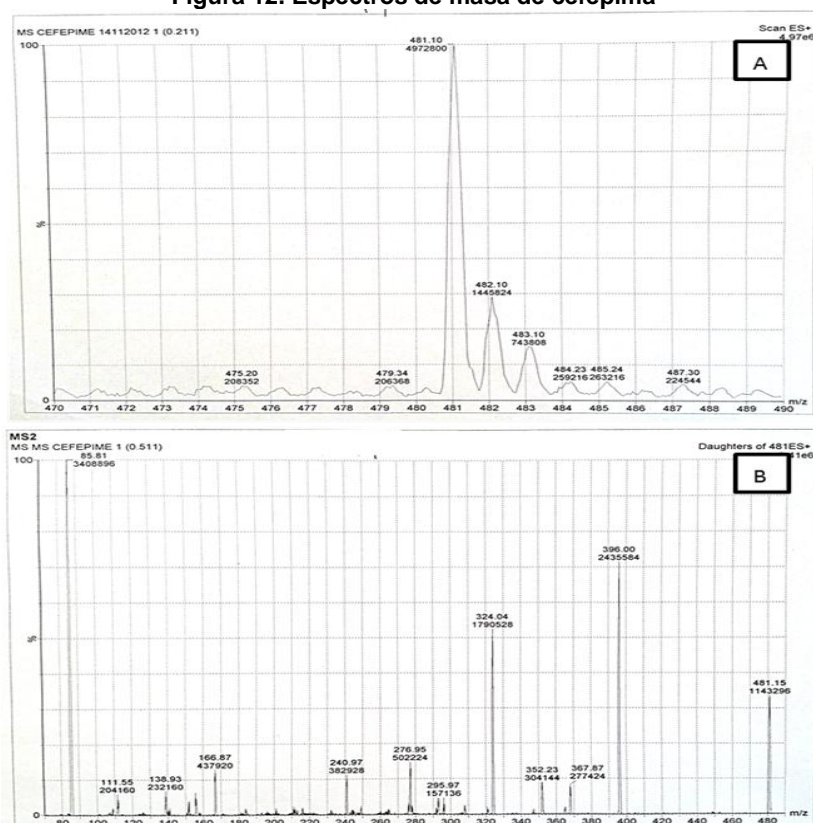
Sexo: F= femenino / M= masculino. FRA: Falla renal aguda. FOM: Falla orgánica múltiple. NA: Neumonía adquirida. SDRA: Síndrome de distrés respiratorio agudo. CID: Coagulación intravascular diseminada. NET=Necrólisis epidérmica tóxica. Filtro M: 1,5m<sup>2</sup>. Filtro L: 2 m<sup>2</sup>. APACHE II: *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*. SOFA: *Sequential Organ Failure Assessment score*

## 5.2. ETAPA ANALÍTICA

### 5.2.1. PROCESO DE VALIDACIÓN EN PLASMA

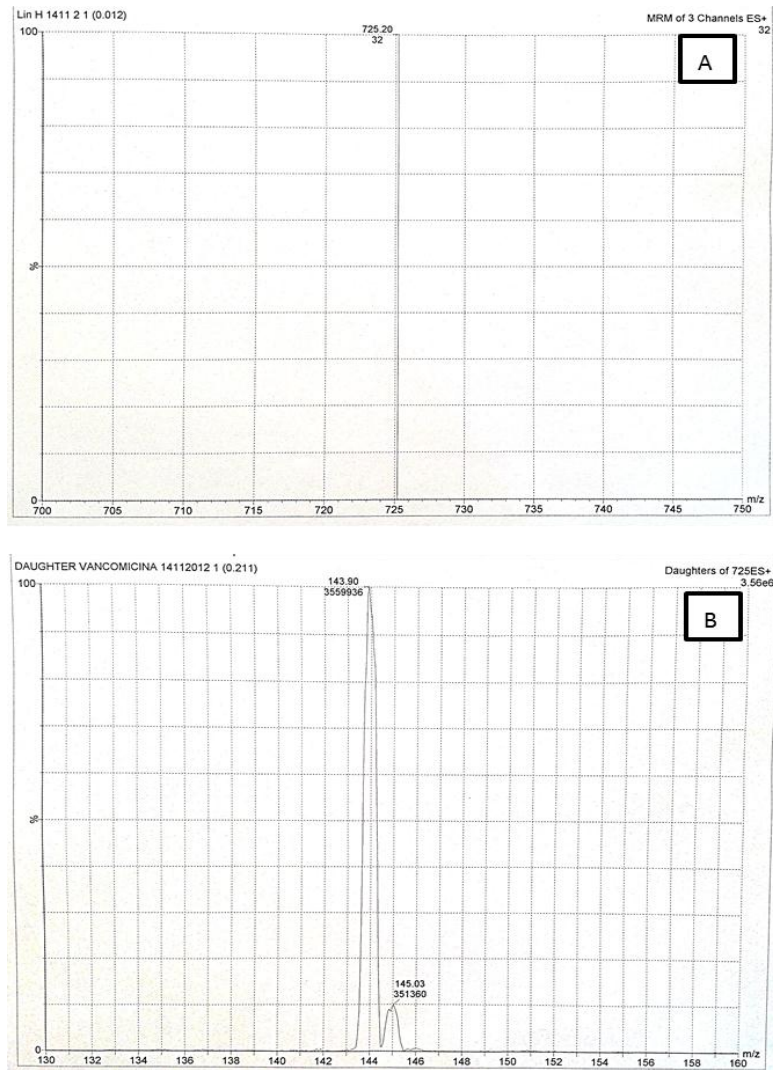
Cefepima y vancomicina fueron identificados en el modo de monitorización de reacciones múltiples (MRM) con ionización por electrospray positivo (ESI+). Ver Figura 12 y 13, respectivamente. La velocidad de flujo de la fase móvil se ajustó a 0,1 mL/min y el tiempo de corrida de análisis fue de 5,5 minutos por muestra en forma isocrática, con 1 minuto de tiempo de re-equilibrio entre muestras. Se controló la temperatura de la columna y del *autosampler* en 40°C y 4°C, respectivamente.

Figura 12. Espectros de masa de cefepima



Determinación de la relación m/z para identificar cefepima por HPLC-MS/MS (CFP 481,13→85,66)  
A: Ión padre 481,1 Da. B: MRM de ionización por electrospray positivo. Ión identificador de 85,6 Da

Figura 13. Espectro de masa de vancomicina



Determinación de la relación m/z para identificar vancomicina por HPLC-MS/MS ( $VMC_{725,2} \rightarrow 143,9$ ).  
A: Ión padre 725,2 Da. B: MRM de ionización por electrospray positivo. Ión identificador de 143,9 Da

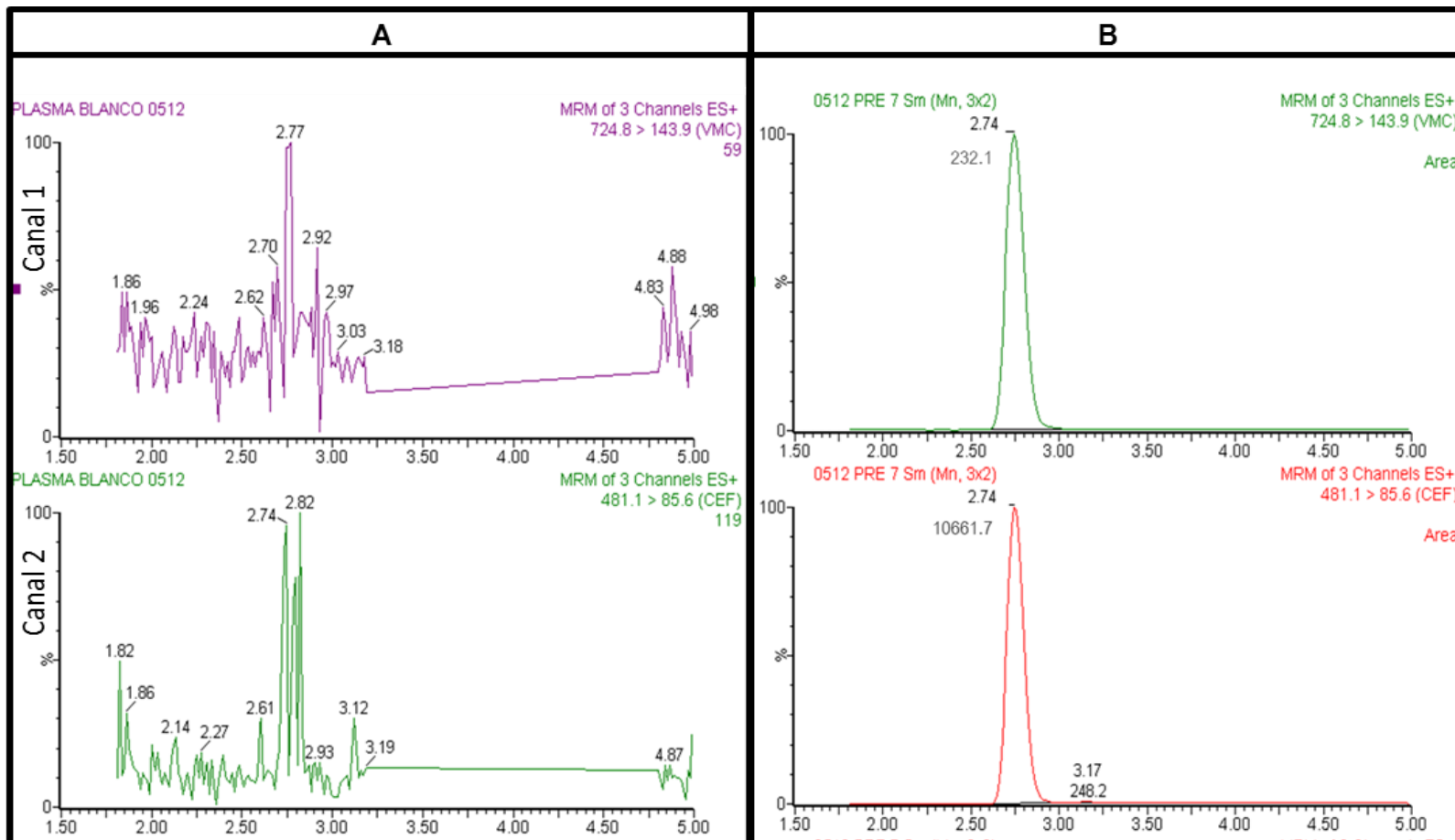
### 5.2.1.1. Selectividad respecto a la matriz

En la Figura 14 (A) se muestran las señales del plasma blanco utilizado para la validación. A los tiempos de retención de VMC y CEF, se observa que el plasma no presentó señales que podrían interferir en el análisis. Se seleccionaron 6 plasmas libres de interferentes entre los 2,5 y 3 minutos (Tabla 10). Al agregar una cantidad que genera la concentración más baja de la curva de calibración (límite de cuantificación, LOQ) como se muestra en la Figura 14-B, se observan los *peaks* para cada analito. De esta forma, se demuestra la selectividad respecto a la matriz. La presencia de una señal de ruido observadas entre los 2 y 3 minutos no superó al 20% de la señal de la concentración del LOQ.

Tabla 10. Evaluación de interferentes en los tiempos de retención esperados para los analitos

	Plasma	Área en tr=2,83 min para VMC	Área Tr=2,82 min para CFP
1	CVB	0	0
2	13	1,7	1
3	EHJ	1	1,7
4	CPC	0,3	1,9
1	CVB	1,5	10,5
6	JCZ	1,6	11,6

Figura 14. Plasma blanco para selectividad



Plasma blanco (A) en los distintos canales de análisis. Plasma blanco con adición de vancomicina (0,625 mg/L) y estándar interno cefepima (B).

Canal 1: vancomicina.

Canal 2: cefepima.

Razón de área promedio plasma cero= 0,0019.

### 5.2.1.2. Linealidad y Rango del Sistema

La Tabla 11 muestra los calibrantes promedio que permitieron establecer el rango de concentración plasmática de vancomicina entre 0,6 a 80 mg/L. La linealidad se representa en la Figura 13.

Todos los niveles evaluados tuvieron un CV <15% y una inexactitud dentro del rango aceptable.

El plasma blanco no arrojó señal cuantificable.

Tabla 11. Linealidad promedio del sistema.

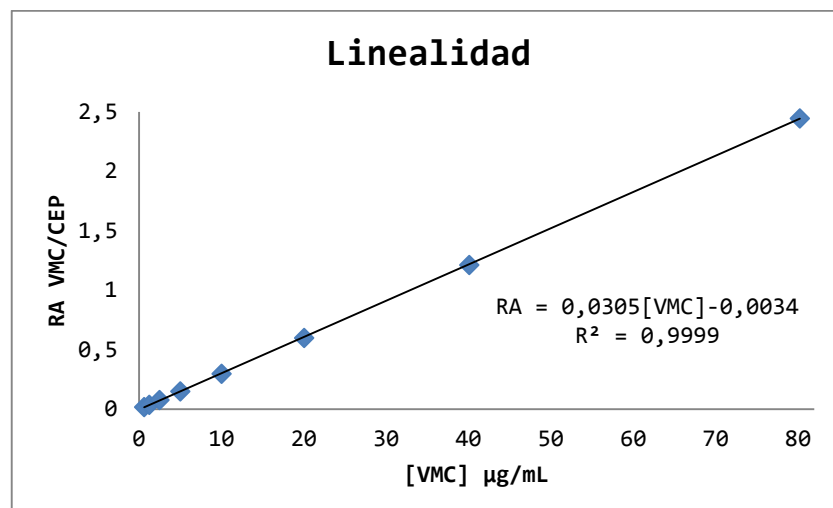
Calibrante [VMC] plasma (µg/mL)	[VMC] calculada Promedio (µg/mL)	DE	CV %	%Exactitud
blanco	---	----	---	----
blanco cero	---	----	---	---
0,627	0,680	0,04	6,08	106,37
1,254	1,298	0,11	8,82	101,55
2,507	2,650	0,08	2,90	103,65
5,015	5,139	0,15	2,96	100,50
10,029	10,102	0,29	2,92	98,77
20,059	20,307	0,43	2,14	99,27
40,117	40,067	1,58	3,84	100,38
80,234	80,423	3,86	4,80	100,24

Resumen de la evaluación de cada punto de la curva de calibración. Ecuación:  $RA = 0,0305[VMC]-0,0034$   
[VMC]: concentración plasmática total de vancomicina. CV: coeficiente de variación. DE: desviación estándar

La razón de área promedio de la muestra cero fue  $RA=0,0019$

Se obtuvo la ecuación que rige el modelo, consiguiendo un  $R^2 \geq 0,980$  para la regresión lineal con la Ecuación 3. En la Figura 15 se muestra la representación gráfica de la linealidad entre la concentración plasmática de vancomicina y la razón de área de cefepima (IS).

Figura 15. Linealidad promedio del sistema.



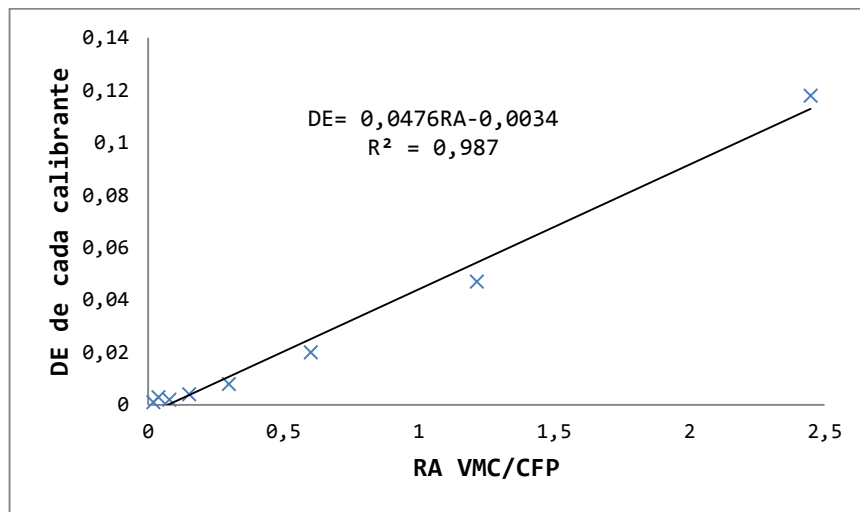
Representación gráfica de la linealidad entre la concentración plasmática total de vancomicina y la RA VMC/CFP. RA: razón de área. VMC: vancomicina. CFP: cefepima. [VMC] concentración plasmática total de vancomicina en µg/mL.



### 5.2.1.3. Límite de Detección (LOD)

Se determinó con la Ecuación 7 descrita en el punto 4.2.1.8, para lo cual, se graficó la razón de área de VMC/CFP versus la desviación estándar de cada calibrante de la curva de calibración anteriormente descrita como se muestra en la Figura 16.

Figura 16. Desviación estándar de la muestra blanco



Representación gráfica de la desviación estándar de todos los calibrantes para extrapolar la DE del blanco (intercepto eje Y)  
 $DE_{\text{blanco}} = -0,0034$

Por lo tanto, utilizando los parámetros obtenidos en la linealidad para vancomicina, el LOD teórico es:

$$LOD \text{ teórico VMC} = \frac{-0,0034 + 3 \times 0,0034}{0,0305} = 0,223 \text{ ug/mL}$$

Señal blanco y ruido:

Según la Ecuación 7, el LOD debe ser al menos 3 veces la señal de ruido. Se comparó la relación de área de plasma con la relación de área promedio del LOD obtenido experimentalmente.

$$\frac{RA_{LOD}}{RA_{muestra\ cero}} = \frac{0,006798}{0,0019} = 3,33$$

El límite de detección fue 3 veces la señal de ruido.

#### 5.2.1.4. Límite de Cuantificación (LOQ)

En la Tabla 12 se muestra la evaluación de precisión y exactitud para el LOQ. Se consideró la concentración más baja establecida en la curva de linealidad del sistema (0,625 mg/L) como el límite de cuantificación.

Tabla 12. Límite de cuantificación. Parámetros de precisión y exactitud

Concentración real	Nivel [VMC]teórica	RA promedio	[VMC]* Calculada µg/mL	% Exactitud
0,627 mg/L LOQ	Muestra 1	0,021	0,747	119,1
	Muestra 2	0,018	0,636	101,4
	Muestra 3	0,019	0,675	107,7
	Muestra 4	0,019	0,661	105,4
	Muestra 5	0,019	0,679	108,3
	<b>Promedio</b>	<b>0,019</b>	<b>0,680</b>	<b>108,4</b>
	<b>DE</b>	<b>-</b>	<b>0,04</b>	
<b>%CV</b>	<b>-</b>	<b>6,08</b>		

\*[VMC] calculada con la ecuación de la curva de calibración de la linealidad

Señal blanco y ruido:

El LOQ debe ser al menos 10 veces la señal de ruido según la Ecuación 9.

Se comparó la relación de área de plasma con la relación de área promedio del LOQ obtenido.

$$\frac{RA_{LOQ}}{RA_{muestra\ cero}} = \frac{0,01930}{0,0019} = 10,30$$

El LOQ fue 10 veces la señal de ruido.

#### **5.2.1.5. Precisión y Exactitud intra-día**

Se evaluó la precisión y exactitud intra-día mediante una curva de calibración y los respectivos controles de calidad: QC bajo (2 mg/L), QC medio (30 mg/L) y QC alto (60 mg/L) en quintuplicado. Adicionalmente, se evaluó el LOQ.

En la Tabla 13 se muestran los resultados de las concentraciones de vancomicina en plasma para cada nivel evaluado. Se muestra la desviación estándar, el coeficiente de variación y el error.

La metodología desarrollada fue precisa (%CV <15%) y exacta (Exactitud entre 85 y 115%) para todos los niveles evaluados.

Tabla 13. Precisión y exactitud intra-día.

[VMC] real	Nivel [VMC]teórica	RA promedio	[VMC] calculada	% Exactitud	% Error relativo
0,627 mg/L LOQ	Muestra 1	0,019	0,525	83,8	16,2
	Muestra 2	0,019	0,517	82,5	17,5
	Muestra 3	0,021	0,569	90,7	9,3
	Muestra 4	0,020	0,545	86,9	13,1
	Muestra 5	0,020	0,538	85,8	14,1
	<b>Promedio</b>		<b>0,539</b>	<b>85,9</b>	<b>14,1</b>
	<b>DE</b>		<b>0,020</b>		
		<b>%CV</b>	<b>3,7</b>		
2,006 mg/L QC bajo	Muestra 1	0,058	2,2	110,4	10,4
	Muestra 2	0,054	2,1	102,4	2,4
	Muestra 3	0,052	1,9	99,0	1,0
	Muestra 4	0,056	2,1	107,0	6,9
	Muestra 5	0,049	1,9	94,1	5,9
	<b>Promedio</b>		<b>2,1</b>	<b>102,6</b>	<b>5,3</b>
	<b>DE</b>		<b>0,1</b>		
		<b>%CV</b>	<b>6,3</b>		
30,088 mg/L QC medio	Muestra 1	0,378	26,9	89,4	10,7
	Muestra 2	0,365	26,0	86,3	13,7
	Muestra 3	0,407	28,9	96,2	3,8
	Muestra 4	0,405	28,9	95,8	4,2
	Muestra 5	0,399	28,4	94,4	5,7
	<b>Promedio</b>		<b>27,8</b>	<b>92,4</b>	<b>7,6</b>
	<b>DE</b>		<b>1,3</b>		
		<b>%CV</b>	<b>4,7</b>		
60,176 mg/L QC alto	Muestra 1	1,750	61,7	102,5	2,5
	Muestra 2	1,745	61,5	102,2	2,2
	Muestra 3	1,767	62,3	103,5	3,5
	Muestra 4	1,790	63,1	104,8	4,8
	Muestra 5	1,790	63,1	104,81	4,8
	<b>Promedio</b>		<b>62,3</b>	<b>103,5</b>	<b>3,5</b>
	<b>DE</b>		<b>0,7</b>		
		<b>CV</b>	<b>1,2</b>		

\*[VMC] en mg/L, calculada con la ecuación de la linealidad.  
 Regresión lineal:  $[VMC] = 0,0285RA - 0,0047$ .  $R^2=0,9996$

### 5.2.1.6. Precisión y Exactitud inter-día

Al igual que para el ítem anterior, se preparó una curva de calibración para calcular las concentraciones experimentales. La Tabla 14 muestra los resultados. Para los cuatro niveles de concentración evaluados, los resultados mostraron que la metodología fue precisa y exacta en cada día evaluado. La linealidad para los tres días de evaluación tuvo una buena correlación.

Tabla 14. Precisión y exactitud inter-día

	LOQ 0,627 mg/L	QC bajo 2,0 mg/L	QC medio 30,1mg/L	QC alto 60,2 mg/L
Día 1 RA=0,0285[VMC]-0,0047 R <sup>2</sup> = 0,9996	0,525	2,2	26,7	61,7
	0,517	2,1	28,1	61,5
	0,569	1,9	28,8	62,3
	0,545	2,1	28,7	63,1
	0,538	1,9	28,2	63,0
Día 2 RA=0,0267[VMC]-0,002 R <sup>2</sup> = 0,9996	0,573	1,9	29,9	59,3
	0,538	1,8	29,2	59,0
	0,530	1,9	28,0	58,1
	0,549	1,8	29,2	58,3
	0,556	1,9	29,0	59,9
Día 3 RA=0,0367[VMC]-0,0022 R <sup>2</sup> = 0,9994	0,701	2,3	28,3	53,9
	0,766	2,2	29,2	56,6
	0,681	2,0	31,0	54,6
	0,728	2,2	27,7	55,9
	0,704	2,3	27,9	55,9
Promedio	0,601	2,0	28,7	58,7
DE	0,087	0,2	1,0	3,0
%CV	14,5	8,7	3,6	5,2
%Exactitud	95,8	101,8	95,3	97,8

### 5.2.1.7. Estabilidad

Se muestran los resultados de la evaluación de estabilidad a corto plazo (Tabla 15); luego de 3 ciclos de congelamiento/descongelamiento (Tabla 16) y estabilidad de vancomicina en la muestra extraída que permaneció en el *autosampler* (Tabla 17). Basados en la estabilidad de la solución stock que para el ítem anterior, se preparó una curva de calibración para calcular las concentraciones experimentales. Todos los resultados indicaron una alta estabilidad de vancomicina en solución y en las muestras, expresado por valores dentro del rango para el coeficiente de variación y con un porcentaje de estabilidad cercano al 100% de la misma forma como se ha descrito en la literatura.

La metodología permite mantener las muestras por 6 horas a temperatura ambiente para su posterior análisis, durante ciclos de congelamiento y descongelamiento así como también, durante una corrida en el *autosampler*.

Sobre la estabilidad a largo plazo, se basó en antecedentes bibliográficos que indicaron que vancomicina en plasma es estable durante más de 70 días a temperatura ambiente y refrigerada a 4°C.<sup>83-86</sup>

Por tal razón, se determinó que a -80°C las muestras mantendrían estabilidad durante el tiempo de almacenamiento.

**Tabla 15. Estabilidad a corto plazo para vancomicina.**

		RA VMC/CEF	Ecuación linealidad	[VMC]	[VMC] Prom	DE	% CV	% Estabilidad	
Nivel bajo (2 mg/L)	T0	M 1	0,056		1,92	1,92	0,14	7,3	100
		M 2	0,060		2,06				
		M 3	0,052		1,78				
	T6	M 1	0,052	RA=0,02957[VMC]-0,00082	1,78	1,83	0,13	7,5	95,3
		M 2	0,050		1,72				
		M 3	0,058		1,98				
Nivel Alto (60 mg/L)	T0	M 1	1,628		55,08	56,32	1,06	1,8	100
		M 2	1,640		55,48				
		M 3	1,700		57,51				
	T6	M 1	1,446	48,92	48,79	1,5	3,1	86,6	
		M 2	1,484	50,21					
		M 3	1,396	47,23					

[VMC] en mg/L. T0= tiempo cero. T6= tiempo 6 horas después a temperatura ambiente (22°C)

**Tabla 16. Estabilidad ciclos de congelamiento/descongelamiento**

		RA prom	Ecuación linealidad	[VMC]	VMC] prom	DE	% CV	% Estabilidad	
Nivel bajo (2,0 mg/L)	T0	M 1	0,056	1,92	1,92	0,14	7,3	100	
		M 2	0,060	2,06					
		M 3	0,052	1,78					
	Ciclo 1 (24 h)	M 1	0,050	RA=0,0285[VMC]-0,0047	2,07	1,95	0,21	10,8	101,7
		M 2	0,040	1,71					
		M 3	0,050	2,08					
	Ciclo 2 (48 h)	M 1	0,042	RA=0,0267[VMC]-0,002	1,73	1,69	0,06	3,5	87,9
		M 2	0,040	1,62					
		M 3	0,042	1,71					
Ciclo 3 (72 h)	M 1	0,042	RA=0,0247[VMC]-0,0019	1,82	1,76	0,11	6,4	91,7	
	M 2	0,036	1,63						
	M 3	0,042	1,83						
Nivel alto (60,1 mg/L)	T0	M 1	1,628	55,08	56,3	1,06	1,9	100	
		M 2	1,640	55,48					
		M 3	1,700	57,51					
	Ciclo 1 (24 h)	M 1	1,548	RA=0,0285[VMC]-0,0047	54,64	54,09	0,6	1,1	96,0
		M 2	1,514	53,46					
		M 3	1,534	54,18					
	Ciclo 2 (48 h)	M 1	1,386	RA=0,0267[VMC]-0,002	52,10	51,81	1,03	2,0	95,7
		M 2	1,402	52,66					
		M 3	1,348	50,66					
Ciclo 3 (72 h)	M 1	1,332	RA=0,0247[VMC]-0,0019	54,04	50,97	2,97	5,8	90,5	
	M 2	1,212	48,12						
	M 3	1,250	50,76						

[VMC] en mg/L.

**Tabla 17. Estabilidad en *autosampler* equipo UPLC-MS/MS**

		RA VMC/CEF	Ecuación linealidad	[VMC]	[VMC] Prom	DE	% CV	% Estabilidad
Nivel bajo (2,0 mg/L)	T0	M 1	0,056	1,92	1,92	0,14	7,3	100
		M 2	0,060	2,06				
		M 3	0,052	1,78				
	T24	M 1	0,049	1,69	1,72	0,10	3,9	87,2
		M 2	0,053	1,82				
		M 3	0,050	1,72				
Nivel Alto (60,1 mg/L)	T0	M 1	1,628	55,08	56,32	1,06	1,8	100
		M 2	1,640	55,48				
		M 3	1,700	57,51				
	T24	M 1	1,467	49,63	49,97	0,78	1,6	88,9
		M 2	1,460	50,20				
		M 3	1,503	50,85				

[VMC] en mg/L. T0= tiempo cero. T24= tiempo 24 horas después en el *autosampler* a 4°C

La metodología desarrollada muestra un rango de linealidad en el que es posible encontrar concentraciones de vancomicina con la administración endovenosa de 1 gramo en un paciente adulto.



### **5.2.2. CUANTIFICACIÓN DE VANCOMICINA EN LAS MUESTRAS**

Con los resultados presentados, se dispuso de la metodología para realizar la medición de vancomicina en las muestras plasmáticas de los pacientes reclutados para el estudio. Las muestras fueron procesadas como se indica en el Esquema 1. Cada día se realizó una curva de calibración previa que permitiera calcular la concentración de vancomicina en las muestras.

Los resultados se muestran en la Tabla 19. Se presentan los valores de concentración plasmática pre-filtro, post-filtro y del líquido efluente, el que contó también con su propio método validado de cuantificación en esa matriz biológica. En la tabla se muestra el valor promedio las dos veces que se inyectó cada muestra. Cada paciente tiene la descripción de la dosis administrada y otros antecedentes de dosis en caso de haber tenido una administración previa de vancomicina. En los pacientes #3, #5, #8, el muestreo comenzó cuando la dosis de vancomicina había sido ya administrada horas antes de iniciar la HFAV, por lo tanto, existía una concentración plasmática inicial.

**Tabla 18. Concentración de vancomicina versus tiempo de todos los pacientes reclutados**

Código	#	Tiempo (h)	[VMC] prefiltro	[VMC] posfiltro	[VMC]efluente	Observaciones
RLV444	1	0	22,5	-	-	Dosis previa: 1000 mg, 18 horas antes del muestreo (1° dosis) Dosis estudio: 1000 mg (2° dosis recibida) Velocidad:1000 mg/h infusión Muestreo al iniciar la infusión y la HFAV
		0,3	42,8	26,5	16,3	
		0,7	72,9	45,1	14,8	
		1	80,5	47,2	33,8	
		2	73,9	44,1	14,6	
		3	54,8	34,1	13,8	
		6	35,3	25,5	8,8	
		12	29,6	16,7	4,7	
FLE447	2	0	0	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Velocidad:781,25 mg/h infusión Muestreo al iniciar la infusión y la HFAV Muestras tiempo 9 y 12 horas perdidas en el laboratorio de urgencia
		0,8	27,5	22,7	26,2	
		1,0	33,5	27,3	33,8	
		1,3	35,5	20,3	33,5	
		2,0	22,5	12,8	14,8	
		3,0	15,5	10,4	15,6	
		4,0	14,2	9,0	13,8	
		6,7	10,5	7,4	8,8	
LVV348	3	0,0	-	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Muestreo 7,22 horas después de iniciada la infusión. Justo al comenzar la HFAV
		0,5	21,0	11,5	22,2	
		1,0	17,8	12,8	17,9	
		2,0	15,6	10,5	16,5	
		4,0	13,4	8,8	12,7	
		6,0	13,3	7,1	10,1	
		8,3	12,3	9,6	10,3	
		12,0	11,7	7,4	8,7	
SYL343	4	0	68,8	-	-	Dosis previa: 1000 mg, 12 horas antes del muestreo (1° dosis) Dosis estudio: 1000 mg (2° dosis recibida) Velocidad: 1000 mg/h Muestreo al iniciar la infusión
		0,5	75,5	68,5	74,1	
		1,0	174,5	124,7	131,3	
		2,0	79,4	55,4	45,1	
		4,0	68,2	48,6	58,3	
		6,0	54,2	32,4	38,1	
		10,0	31,4	23,2	34,8	
		12,0	30,1	29,7	12,4	
AAS446	5	0	25,6	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Muestreo: 6,5 horas después de iniciada la infusión, al comenzar la HFAV,
		0,3	21,3	18,6	6,2	
		0,6	16,9	12,3	5,6	
		1,1	15,7	11,5	8,6	
		2,1	15,6	12,6	8,7	
		4,0	14,0	-	5,8	
		9,0	11,4	10,2	1,7	
		12,0	9,6	4,8	2,1	

Tabla 18 (Cont.) Concentración de vancomicina versus tiempo de todos los pacientes reclutados

Código	#	Tiempo (h)	[VMC] <sub>prefiltro</sub>	[VMC] <sub>posfiltro</sub>	[VMC] <sub>efluente</sub>	Observaciones
ART444	#8	0	0	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Velocidad: 818 mg/h Muestreo al iniciar la infusión.
		0,5	54,5	42,8	25,4	
		1,0	40,6	21,9	18,8	
		2,0	27,4	17,7	15,8	
		4,0	13,1	12,4	8,8	
		6,0	12,3	12,3	6,4	
		9,0	6,9	5,8	4,0	
		12,0	6,2	2,2	3,7	
CPV422	#9	0,0	0,0	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Velocidad: 666,6 mg/h Muestreo al iniciar la infusión.
		0,5	22,3	12,2	14,9	
		1,5	22,6	11,7	23,9	
		3,0	16,2	10,1	14,2	
		4,0	12,9	6,8	10,9	
		6,0	9,7	5,7	4,6	
		9,2	4,7	3,0	3,8	
		12,0	3,3	2,1	1,5	
GRV444	#11	0,0	10,8	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Muestreo: 12 horas después de la administración, al comenzar la HFAV.
		0,5	6,8	5,8	-	
		1,0	5,5	3,3	-	
		2,0	5,4	4,3	-	
		4,4	2,8	1,9	-	
		6,1	1,6	0,9	-	
		9,0	1,3	0,9	-	
		12,0	0,0	0,0	0,0	
JFS447	#14	0,0	0,0	-	-	Dosis previa: ninguna Dosis estudio: 1000 mg (1° dosis recibida) Velocidad: 800 mg/h Muestreo al iniciar la infusión.
		0,5	28,6	20,4	8,0	
		0,8	69,1	53,3	14,4	
		1,3	41,7	25,3	10,6	
		2,0	35,2	21,3	7,4	
		4,0	20,3	12,0	4,6	
		6,1	14,8	11,1	7,0	
		9,0	10,3	6,4	5,5	
		12,0	8,8	5,8	4,2	

[VMC]= concentración plasmática total de vancomicina en mg/L. # = Número de identificación del paciente

### **5.3. ETAPA FARMACOCINÉTICA**

#### **5.3.1. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO INDIVIDUAL**

En la Figura 17 se muestran los perfiles de cada paciente en el tiempo de concentración plasmática de vancomicina ([VANCO], expresada en mg/L), durante las 12 horas de HFAV, de acuerdo a las condiciones descritas en la Tabla 17. La línea discontinua señala la [VMC]<sub>valle</sub> requerida para pacientes críticos.

Al tratar los datos en conjunto, se puede observar que el comportamiento de las concentraciones plasmáticas de vancomicina indica un decaimiento antes de completar las 12 horas de HFAV.

Sólo en 2 de los 9 pacientes la concentración plasmática lograda después de las 12 horas de HFAV fue >15 mg/L (paciente #1 y #4). Tres pacientes tuvieron concentraciones por debajo de ese límite a partir de la cuarta hora de HFAV (paciente #2, #3, #5, #8, #9), y un paciente nunca consiguió tener concentraciones plasmáticas terapéuticamente útiles durante el procedimiento (paciente #11).

La evaluación en conjunto de los perfiles de concentración plasmática muestra que a partir de la hora 6 de HFAV, las concentraciones plasmáticas están en rango sub-terapéutico, por debajo incluso que las concentraciones valle esperadas. Ver Figura 18.

Es necesario hacer notar que la concentración valle se define como la concentración plasmática lograda con una dosis justo antes de la siguiente administración, por lo tanto, si la frecuencia de administración de vancomicina en pacientes críticos es cada 24 (a 48) horas incluso durante la HFAV, se observa que se está en rango sub-terapéutico en el 75% del intervalo.

Estos resultados ponen de manifiesto el incumplimiento de los requerimientos PK/PD para vancomicina en el paciente crítico, evidenciando un uso inapropiado con las dosis usuales.

Estudios previos de la farmacocinética de vancomicina durante terapias de reemplazo renal han mostrado diferentes CL<sup>87,88</sup> resultando en variables grados de cumplimiento de las concentraciones plasmáticas para la eficacia terapéutica.<sup>70,89</sup>

Esta situación ha sido también descrita cuando la velocidad de hemofiltración es mucho menor a los 100 mL/Kg/h <sup>90,91</sup>

Por lo tanto, la suposición que al utilizar las dosis estándar de vancomicina durante HFAV generaría concentraciones subterapéuticas puede considerarse cierta.

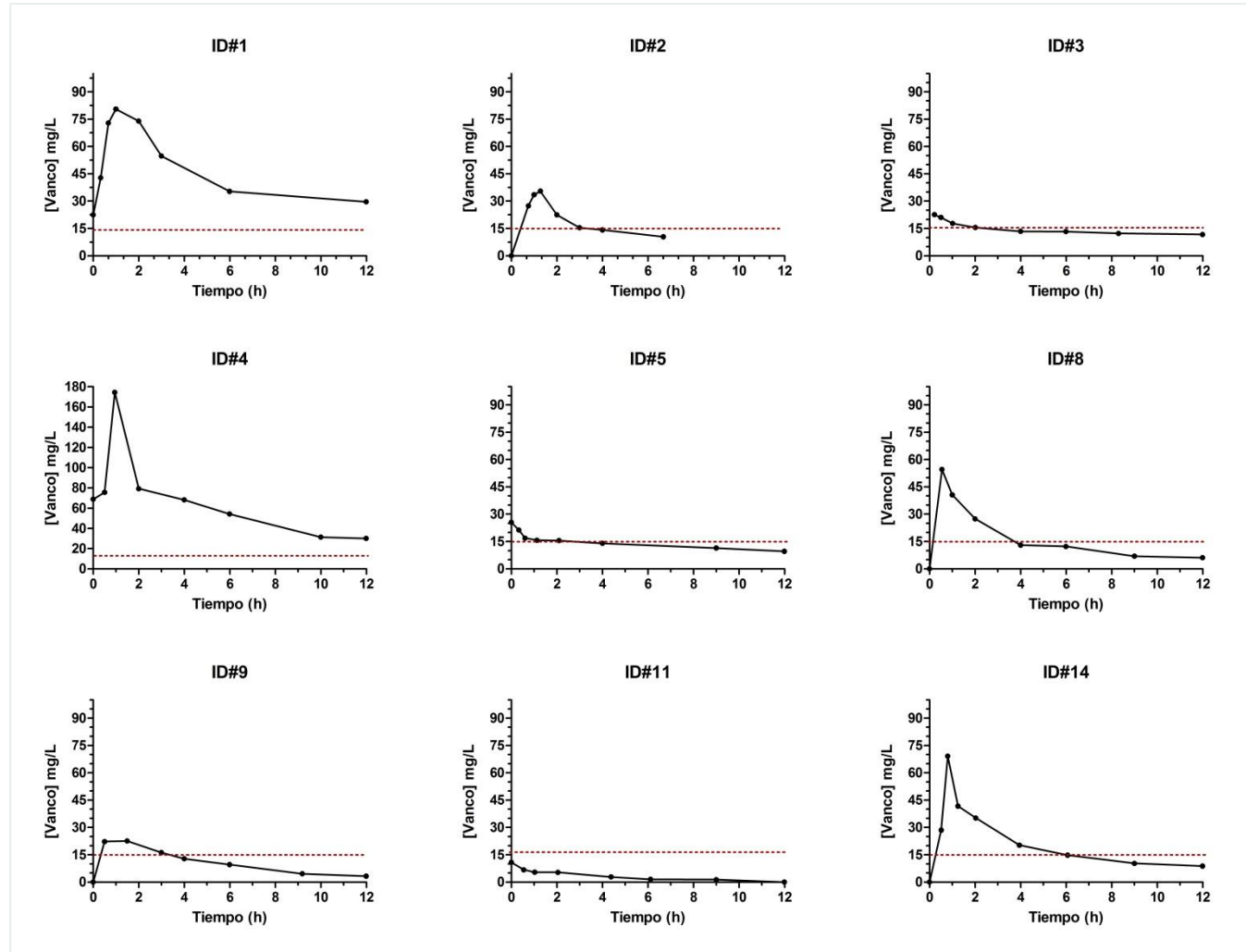
Llama la atención la alta variabilidad de las concentraciones plasmáticas observadas entre los pacientes con igual dosis de vancomicina administrada.

Esta situación se podría entender si se consideran las alteraciones fisiopatológicas de los pacientes críticos que contribuyen a que la alteración en la farmacocinética sea de causa multifactorial.<sup>32</sup> Por ejemplo, se ha observado que fármacos hidrofílicos son susceptibles de migrar hacia el espacio extravascular, debido a la debilidad capilar presente en cuadros inflamatorios, modificando la concentración en plasma al alterarse el volumen de distribución.<sup>50</sup> Otra situación es la cambiante función renal, que cursa con oscilaciones entre estados hiperdinámicos e hipodinámicos a causa de los cambios en el flujo vascular con variaciones notorias del *clearance*.<sup>55</sup> Por lo tanto, ante igual dosis administrada, las concentraciones plasmáticas observadas son diferentes entre un paciente y otro e incluso, en un mismo paciente como lo observado en este estudio.

Pese a la alta discusión en torno al impredecible perfil farmacocinético en el paciente críticamente enfermo, las conclusiones generales siguen siendo fomentar la investigación del comportamiento de cada fármaco empleado en UCI.<sup>31,32,43,49,50,92</sup> Particularmente para vancomicina, la monitorización permanente de los niveles plasmáticos debería ayudar a superar estas dificultades asociadas a su uso. Sin embargo, no todos los centros de salud que utilizan vancomicina en sus pacientes cuentan con una técnica analítica para su cuantificación y en otros, existe poca utilización una vez obtenido el valor para una correcta interpretación farmacocinética.

La aparición de resistencia en cepas de *Staphylococcus* ha motivado a redefinir constantemente las concentraciones plasmáticas efectivas, las que se han incrementado en el tiempo.<sup>56</sup> Con los resultados aquí mostrados, se puede argumentar que las posibilidades de exposición a concentraciones inefectivas son elevadas, lo que podría contribuir a aumentar la selección de cepas bacterianas resistentes.

Figura 17. Curvas de concentración plasmática total pre filtro de vancomicina versus tiempo de los pacientes reclutados.

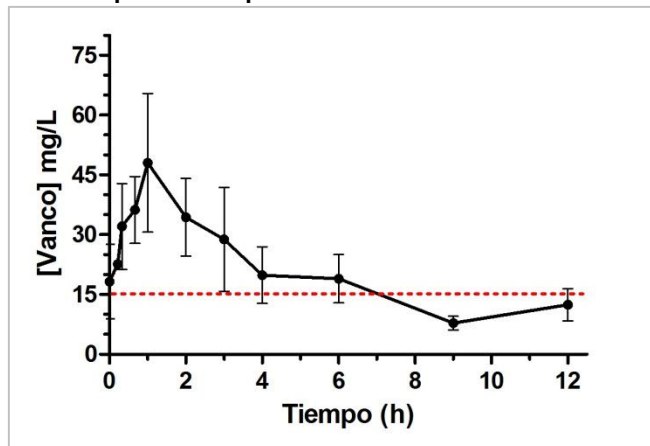


[Vanco]= Concentración plasmática total de vancomicina, en mg/L.---[Vanco]<sub>valle</sub> = 15 mg/L



Considerando que vancomicina se excreta principalmente como fármaco inalterado por la orina, y que los pacientes de este estudio cursaban un deterioro importante de su función renal reflejado en su estado anúrico u oligúrico, estos resultados permiten concluir que el principal mecanismo de remoción del antibiótico es el generado por el sistema de hemofiltración y que en promedio, a partir de la séptima hora las concentraciones plasmáticas de vancomicina serían sub-terapéuticas.

Figura 18. Concentración plasmática promedio de vancomicina durante 12 horas de HFAV



[VMC] = Concentración plasmática total de vancomicina. -- [VMC]<sub>valle</sub> = 15 mg/L

Algo similar se describe en un reciente reporte de casos de pacientes con falla renal aguda durante una HFAV de ~56 mL/Kg/h donde se muestra que a las 24 horas, las concentraciones plasmáticas decaen tanto que incluso están por debajo del LOD de la técnica usada para la cuantificación (<5 mg/L).<sup>70</sup>

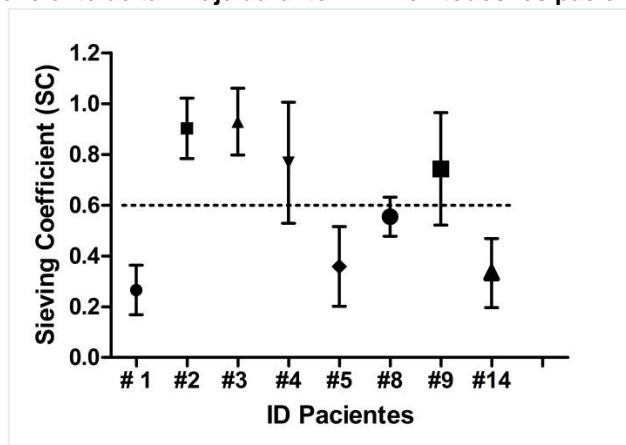
Estos resultados son los primeros obtenidos en estudios farmacocinéticos durante HFAV con velocidad promedio de 100 mL/kg/h para vancomicina.

### 5.3.2. COEFICIENTE DE TAMIZAJE PROMEDIO DE VANCOMICINA EN HFAV

En todos los pacientes el SC de vancomicina fue cercano a 1 durante la HFAV reflejando la capacidad de extracción y explicando a la vez que la reducción de las concentraciones plasmáticas se debe a eliminación de la molécula por el sistema. Sin embargo, el valor fue fluctuante durante el procedimiento en cada paciente posiblemente a cambios en la fracción de vancomicina libre dependiente de la albuminemia. Aunque en el análisis posterior no se evidencia su importante contribución, podría tener cierta relación punto a punto.

La Figura 19 muestra el valor promedio con su desviación estándar. Sólo en un paciente no se pudo obtener el SC (paciente #11), el que fue excluido en la descripción. El SC promedio de vancomicina fue  $0,61 \pm 0,29$  siendo muy semejante a lo observado durante TRR.<sup>72,93</sup>

Figura 19. Coeficiente de tamizaje durante HFAV en todos los pacientes estudiados



SC= cociente de tamizaje. SC=  $0,6 \pm 0,29$ . --- Valor SC promedio

### 5.3.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO POBLACIONAL

Los datos de las concentraciones plasmáticas total de vancomicina versus tiempo de cada muestra pre-filtro se consideraron como una observación, generando finalmente un n=68 con el que se realizó el análisis poblacional. La cantidad de observaciones fueron evaluadas para construir un modelo que describiera el comportamiento farmacocinético de vancomicina durante la HFAV. El desarrollo de este modelo se presenta como resultados, ya que se va construyendo en un análisis secuencial tomando en consideración qué dosis administrada fue de 1000 mg en una infusión de 1 hora en todos los pacientes.

#### 5.3.3.1. Construcción del modelo farmacocinético poblacional

Las etapas para la construcción del modelo usando modelamiento no lineal de efectos mixtos fueron:

a) *Modelado del error (residual unexplained variability, RUV)*: La primera etapa realizada fue modelar el error residual. Se estudió si podía ser aditivo, exponencial o mixto.

Usando el criterio de la reducción del OFV, el modelo residual aditivo y exponencial (mixto) explicaba mejor los datos, tomando la forma:

$$Y = F + F^* \times Error(1) + Error(2) \quad \text{Ecuación 13}$$

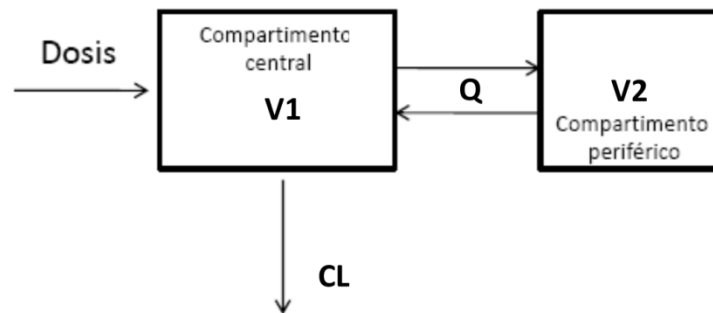
Donde Y fue el valor predicho por el incipiente modelo

b) *Determinación de modelo compartimental*: Para continuar con la construcción del modelo, se necesitó definir si vancomicina se ajustaba a modelo de 1, 2 o más compartimentos.

El modelo de 2 compartimentos fue el que mejor se ajustó a los datos de concentración plasmática versus tiempo con una cinética de administración de orden cero. Este modelo responde a la caracterización normal de vancomicina descrita en la literatura.<sup>56,60,61</sup>

El esquema que mejor representa este modelo compartimental resultante se muestra en la Figura 20.

**Figura 20. Modelo de 2 compartimentos**



De esta manera, cuatro parámetros definieron el modelo, tal como se muestra en la Tabla 19.

**Tabla 19. Parámetros farmacocinéticos poblacionales para un modelo de 2 compartimentos.**

Nomenclatura para NONMEM®	Parámetro
CL	Clearance desde el compartimento central
V1	Volumen de distribución del compartimento central
V2	Volumen de distribución del compartimento periférico
Q	Clearance intercompartimental

c) *Variabilidad entre los pacientes (Between-subject variability, BSV)*: La variabilidad entre los pacientes se analizó para cada parámetro obtenido dado el modelo compartimental definido (V1, V2, Q y CL). Se evaluó primero cada parámetro individualmente buscando mejorar el modelo y una vez identificado con cuál parámetro se generaba una reducción el OFV  $>3,84$  además de un error  $<30\%$ , se procedió a incluir combinaciones con los otros evaluando cada incorporación. De esta manera, se determinó que la BVS podía explicarse tanto para el *clearance* desde el compartimento central, como el *clearance* entre compartimentos (CL y Q, respectivamente).

d) *Covariables*: El valor típico (*typical value, TV*) para cada parámetro se estudió con todas las covariables disponibles. Inicialmente se realizó una inspección visual entre los parámetros (CL, V1, V2 y Q) con cada covariable, evaluando posibles correlaciones. Las correlaciones lineales con un  $R^2 > 0,5$  se preseleccionaron, las que luego fueron sometidas a evaluación con el modelo y el respectivo efecto sobre la reducción del OFV  $>3,84$  unidades como criterio de selección.

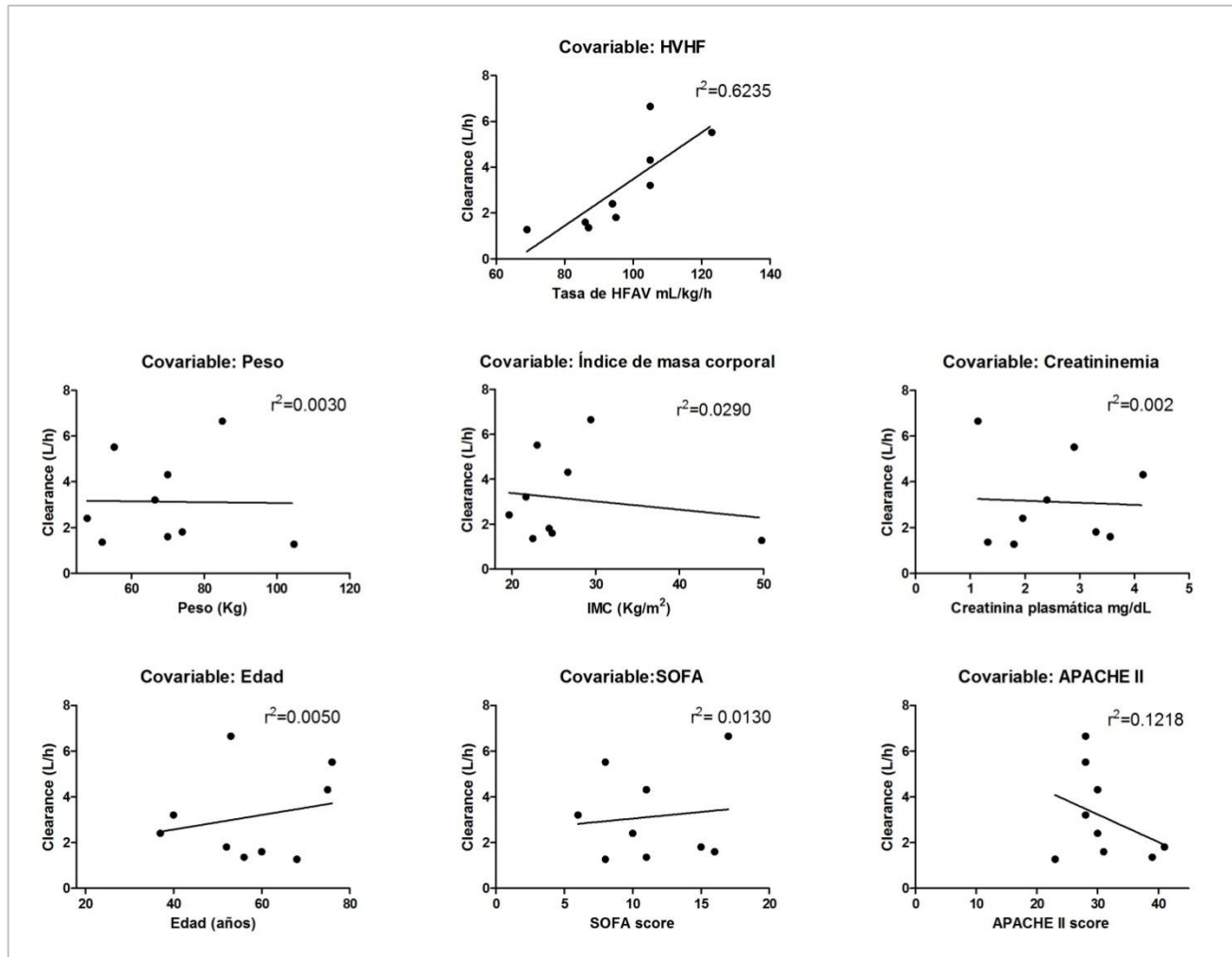
Las covariables estudiadas fueron: creatininemia, velocidad de flujo sanguíneo (Qb), tamaño del filtro (superficie), edad, sexo, peso, IMC, índice APACHE II, índice SOFA, velocidad de sustitución (considerado como la dosis de HFAV) para cada parámetro.

En las Figuras 21 a la 24 se muestran las correlaciones gráficas realizadas con el objetivo de encontrar las covariables que podrían contribuir en el modelo para cada parámetro farmacocinético.

Dado lo anterior, se observó por ejemplo que para el  $V_2$  ninguna de las covariables analizadas mostraba correlación. No así para  $V_1$  que pudo mostrar una posible correlación con la creatinemia y la edad. Sin embargo, de todas las evaluaciones observadas, la covariable que presentó mayor correlación con un parámetro farmacocinético fue la velocidad de HFAV, la que se relacionó fuertemente con el CL.

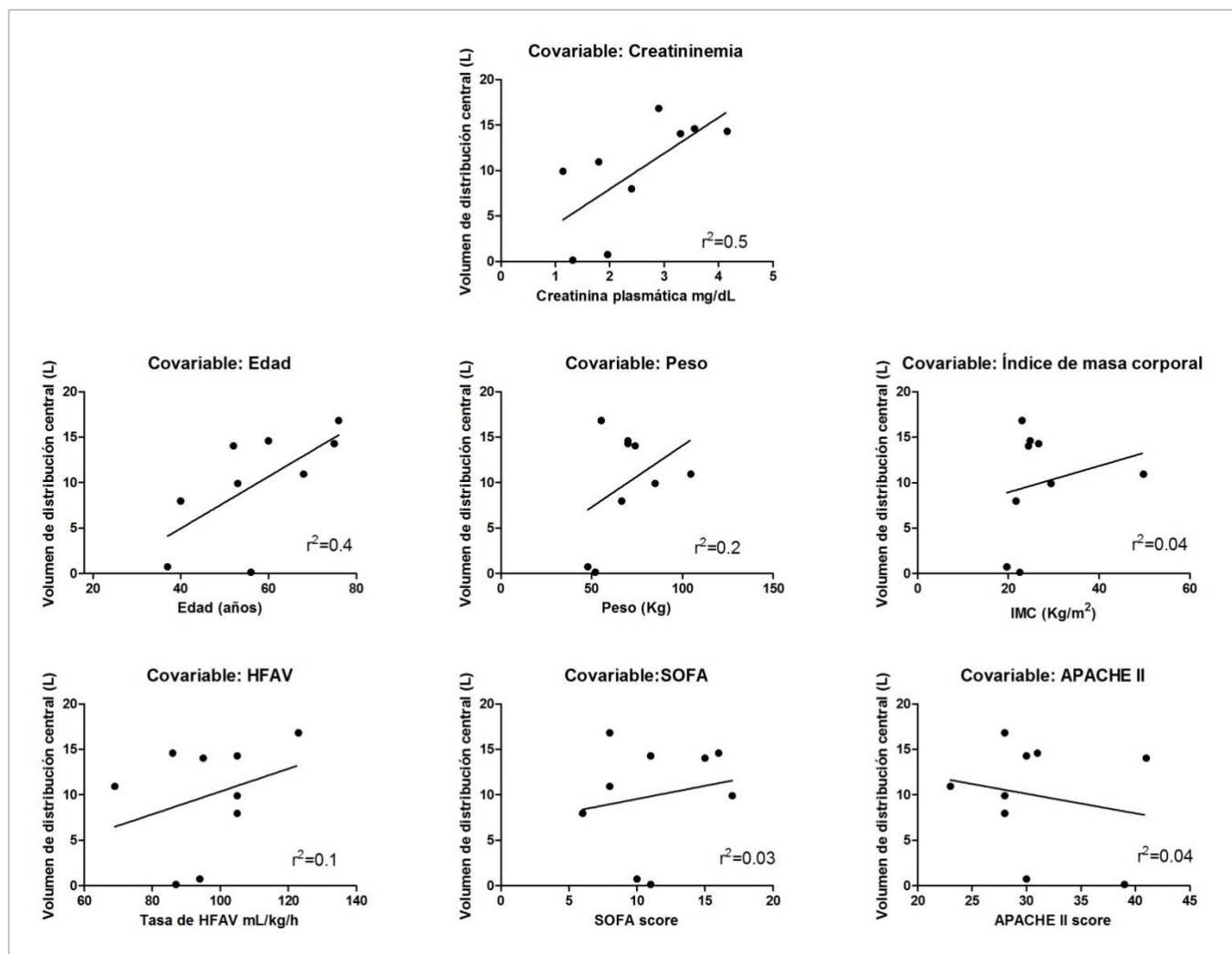
Esta preselección fue luego evaluada utilizando los criterios estadísticos para determinar su contribución.

Figura 21 . Evaluación de posibles covariables para el *clearance* del compartimento central (CL)



De todas las covariables estudiadas, la velocidad de HFAV fue la que mostró mejor correlación lineal con el CL y se preseleccionó para evaluar su contribución en el modelo final.

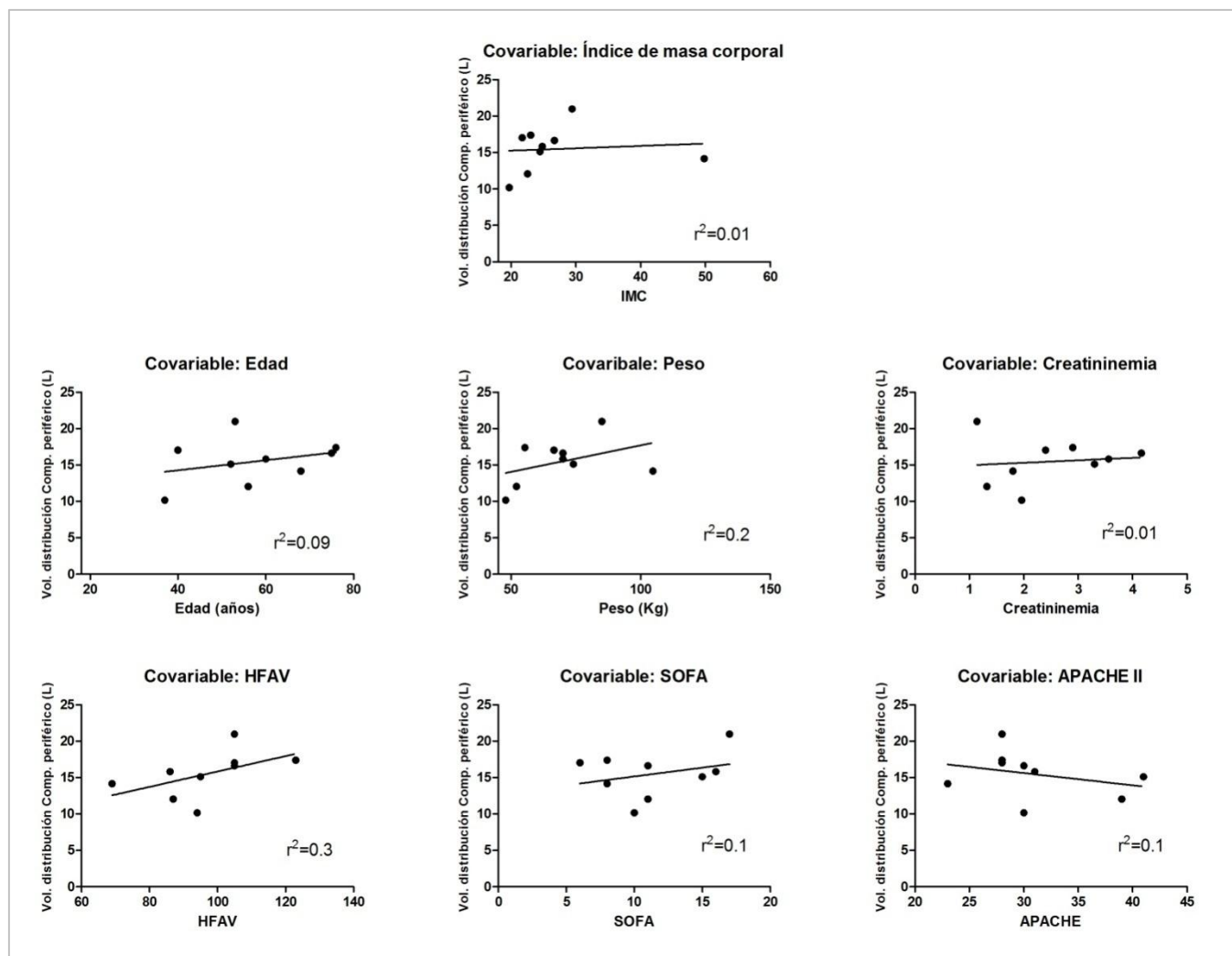
Figura 22. Evaluación de posibles covariables para el volumen de distribución del compartimento central (V1)



De las covariables estudiadas, la creatininemia y la edad mostraron un cierto grado de correlación lineal con el V1 y se preseleccionaron para evaluar su contribución en el modelo final.

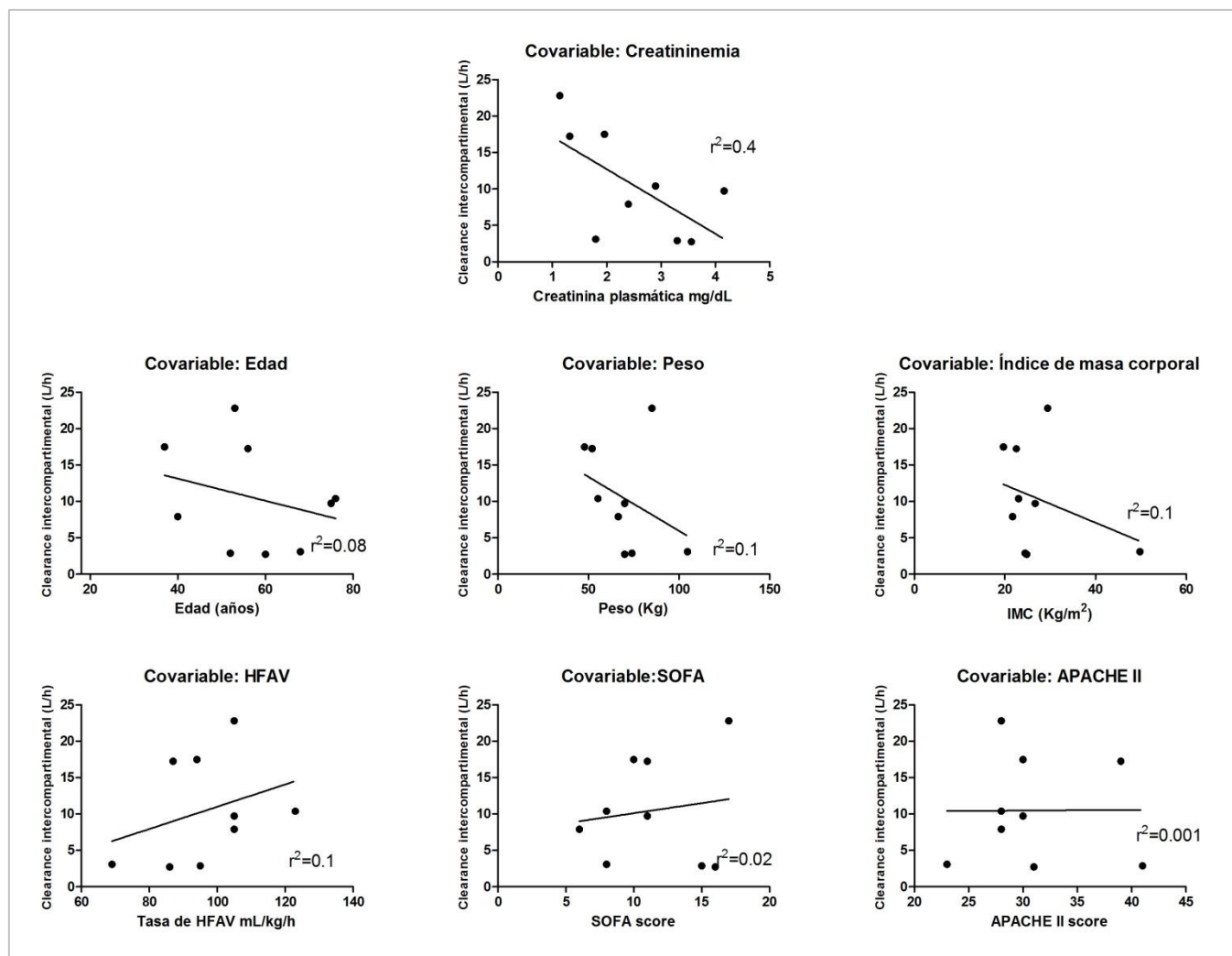


Figura 23. Evaluación de posibles covariables para el volumen de distribución del compartimento periférico (V2)



Ninguna de las covariables estudiadas mostró algún grado de correlación lineal con el V2. Igualmente se evaluó su contribución en el modelo final

Figura 24. Evaluación de posibles covariables para *clearance* intercompartmental (Q)



De las covariables estudiadas, la creatininemia mostró algún grado de correlación lineal con el V2 y se evaluó su contribución en el modelo final

Al evaluar la construcción del modelo incorporando las covariables preseleccionadas para cada parámetro farmacocinético, sólo la velocidad de sustitución (HFAV) pudo mantener una fuerte influencia capaz de explicar el *clearance* de vancomicina en la muestra de pacientes ( $p < 0,05$ ).

Se consideró más representativo utilizar el valor promedio de HFAV como factor para el valor típico del CL, quedando expresado como:

$$TV\ CL = \frac{\theta_1}{\frac{HFAV}{100}}$$

**Ecuación 14**

Donde  $\theta_1$  el valor de *clearance* esperado o descrito en la literatura y HFAV (en mL/Kg/h) es la velocidad de hemofiltración utilizada en el paciente a estudiar.

El resultado final del modelo es que las concentraciones observadas en estos pacientes están explicadas por el CL de vancomicina debido a la velocidad a la que se realiza el procedimiento de la HFAV, la que debe normalizarse por el valor promedio de 100 mL/Kg/h.

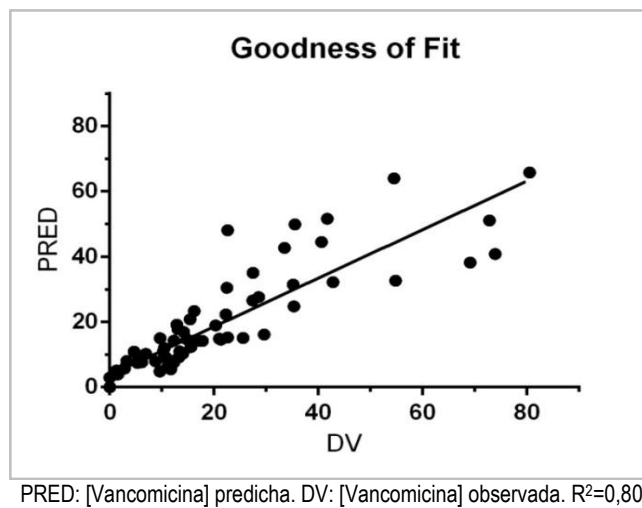
La Ecuación 14 es la fórmula que permitiría realizar ajustes de dosis en estas condiciones.

### 5.3.3.2. Evaluación del modelo

Se evaluó la capacidad del modelo de predecir los datos observados, realizando inspecciones visuales de gráficos para la bondad de ajuste. El modelo farmacocinético final que consideró como covariable a la velocidad de sustitución (representada por HFAV) mostró ser capaz de describir las concentraciones plasmáticas observadas de vancomicina.

La bondad de ajuste de los datos (Figura 25) muestra que la correlación entre las concentraciones plasmáticas totales de vancomicina poblacionales,  $[VMC]_{pop}$ , predichas y las observadas es elevada ( $R^2=0,80$ ), así como también para las predicciones individuales ( $R^2=0,98$ ). Ambos valores indican que el modelo es aceptable para los datos.

Figura 25. Bondad de ajuste de los parámetros farmacocinético modelados y los observados.



Finalmente, los parámetros farmacocinéticos poblacionales que el modelo pudo describir se encuentran en la Tabla 20.

**Tabla 20. Parámetros farmacocinéticos poblacionales obtenidos con el modelamiento no lineal de efectos mixtos.**

Parámetro farmacocinético poblacional	Valor obtenido con el modelo
CL	2,7 L/h
V1	11,9 L
V2	17,3L
Q	4,9 L/h

Con el modelo desarrollado, se evaluó su incertidumbre para predecir los parámetros farmacocinéticos poblacionales definidos previamente (CL, V1, V2 y Q). Para ello, se sometió a 1000 iteraciones con el método no paramétrico *Bootstrap* para obtener el valor promedio con un intervalo de confianza del 95%.

En la Tabla 21 se muestran los resultados de la prueba *Bootstrap* y aquellos obtenidos inicialmente con el modelo para comparar los resultados.

El valor de los parámetros que el modelo arrojó está dentro del intervalo de confianza del 95%.

**Tabla 21. Incertidumbre del modelo para predecir los parámetros farmacocinéticos poblacionales**

Parámetro farmacocinético poblacional	Valor modelo	Valor <i>Bootstrap</i> [IC95%]
CL (L/h)	2,7	2,9 [2,0-3,8]
V1 (L)	11,9	11,8 [11,1-13,7]
V2 (L)	17,3	18,0 [14,4-22,2]
Q (L/h)	4,9	9,3 [3,9-16,5]

Los parámetros farmacocinéticos descritos por el modelo farmacocinético poblacional obtenidos de los datos de concentración plasmática de vancomicina versus tiempo fueron adecuadamente coincidentes con los arrojados con las 1000 iteraciones.

Fue posible luego obtener mayor información que describe vancomicina en este grupo de pacientes, utilizando las Ecuaciones 10, 11 y 12, respectivamente

Entonces,

$$T^{1/2} = \frac{0,693 \times Vd}{CL} = \frac{0,693 \times 29,2 L}{2,7 L} = 7,5 h$$

Nadezda y cols<sup>72</sup>. encontraron un tiempo de vida media de eliminación un poco mayor a lo aquí obtenido (8.8 h), sin embargo, su estudio se trataba de HFAV de 45 mL/Kg/h. Los datos de literatura indican que vancomicina en pacientes sin deterioro de la función renal tiene un T ½ de 5 – 11 horas.<sup>56</sup> Por lo tanto, también este valor se podría relacionar con el comportamiento normal de vancomicina en estos pacientes, pese a su condición crítica antes descrita.

Asimismo, el área bajo la curva (ABC) de la concentración plasmática total versus tiempo para vancomicina sería:

$$ABC = \frac{dosis}{CL} = \frac{1000 mg}{2,7 L/h} = 370,3 mg/L/h$$

Este resultado demuestra el incumplimiento de la condición PK/PD de  $ABC > 400$  considerando una  $CIM = 1$  mg/L para eficacia terapéutica en paciente crítico<sup>64,67,68</sup> y se correlaciona con las bajas concentraciones plasmáticas en el tiempo a causa de la HFAV.

El *clearance* observado es similar al descrito en otros trabajos de terapias de reemplazo renal (TRR) en pacientes críticos. Un trabajo recientemente publicado por Udy y cols.<sup>90</sup> describe un *clearance* de 2,9 L/h, sin embargo, los pacientes seleccionados para ese estudio no tenían una función renal disminuida como es el caso de los pacientes de este proyecto. El trabajo de Uchino y cols.<sup>87</sup> describe un CL mayor a descrito en este estudio. Cabe destacar que los pacientes seleccionados en su estudio también contaban con una función renal remanente durante la HFAV, lo que podría significar que el CL declarado sea la suma de ambos procesos.

Como era de esperar, en estudios durante hemofiltraciones a más bajas velocidades, los CL son menores.<sup>72,88</sup>

Eso corrobora que el *clearance* de vancomicina bajo estas condiciones analizadas está explicado por el procedimiento de hemofiltración y por tal motivo fue identificada como covariable.

#### 5.3.4. SIMULACIÓN DE DOSIS

Utilizando NONMEM® se continuó con la simulación de dosis utilizando la programación lograda para obtener los parámetros farmacocinéticos poblacionales.

La simulación tenía por objetivo estimar qué dosis de vancomicina debería administrarse considerando las condiciones de los pacientes.<sup>67</sup> Haber definido que la velocidad de sustitución es la principal covariable permitió direccionar la simulación de dosis respecto a distintas velocidades, tomando en cuenta el 69 mL/kg/h, 100 mL/kg/h y 123 mL/kg/h, que corresponden al valor promedio el mínimo y el máximo en la muestra de pacientes, respectivamente (ver Tabla 9).

De esta forma, las simulaciones tomaron en cuenta una evaluación para 3 velocidades de sustitución expresadas en mL/kg/h, usando como referencia un paciente con peso promedio de 70 Kg.

Para las simulaciones se establecieron ciertas condiciones de trabajo, las que tenían relación con la administración de vancomicina para alcanzar concentraciones plasmáticas útiles según los parámetros PK/PD,<sup>64</sup> concentraciones de toxicidad, falla terapéutica y uso clínico, acorde a la información disponible en la literatura y en las guías de uso de vancomicina.

La falla terapéutica en el tratamiento con vancomicina está fuertemente relacionada con las concentraciones plasmáticas menores a 15 mg/L en



bacteriemias por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente (SAMR) con Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) > 1mg/L.<sup>64</sup> Por este motivo, se ha considerado como terapia estándar alcanzar concentraciones plasmáticas valle por sobre ese valor junto a la relación del ABC/CIM >400.<sup>94</sup>

Utilizando esos antecedentes, se realizaron múltiples simulaciones para las distintas tasas de HFAV con variadas dosis, velocidades de infusión, tiempo de duración de la infusión y frecuencia de administración estableciendo las siguientes condiciones para las simulaciones:

**Tabla 22. Condiciones para las simulaciones de dosis**

Condiciones	
Dosis	Ajustada en mg/kg de peso, para un paciente con peso promedio de 70 Kg.
Tipo de administración	Infusión vascular
Duración de infusión	2 horas
Intervalo de administración	Cada 12 horas
Concentración objetivo	Concentraciones valle entre 15 y 20 mg/L

Además, se definió establecer una dosis de carga y utilizarla para siguientes esquemas de administración. De esta forma, se obtuvieron 3 posibles escenarios para proponer esquemas de administración de vancomicina durante hemofiltración de alto volumen:

- a) Dosis de carga
- b) Dosis de carga + Dosis de mantención
- c) Dosis de carga + Infusión continua

En la Figura 26 se muestran en resumen las simulaciones que mejor se ajustan a los requerimientos para su visualización simultánea. La selección primero de la dosis de carga adecuada para cada una de las tres velocidades de HFAV estudiadas permitió luego definir la dosis de mantención.

a) *Simulación de dosis: Dosis de carga*

A pesar de que la vida media de eliminación descrita para vancomicina es intermedia, se ha propuesto que la administración de una alta “dosis de carga” seguido de un esquema de dosis más baja de mantención permite obtener rápidamente las concentraciones valle requeridas en poco tiempo logrando concentraciones plasmáticas valle >15 mg/L. Este recurso, muy utilizado para fármacos con vida media prolongada, ha sido empleado para vancomicina con aceptable respuesta para alcanzar concentraciones estables en el tiempo y favorecer la llegada al estado estacionario.<sup>64</sup>

En la Figura 26 (panel i, iii y v) se observan las concentraciones plasmáticas resultantes de las diferentes dosis de carga simuladas.

De esta forma, la simulación permitió identificar que para una velocidad de HFAV de 69, 100 y 123 mL/Kg/h, la dosis de carga debería ser de 20 mg/Kg (1400 mg), 25 mg/Kg (1750 mg) y 30 mg/Kg (2100 mg), respectivamente.

Estos resultados ponen de manifiesto que la dosis de carga de vancomicina debería al menos ajustarse tanto por peso del paciente como por la tasa de HFAV, situación que es opuesta a la prescripción de 1000 mg a todos los pacientes por igual. Claramente, como también se aprecia en las concentraciones plasmáticas mostradas en la Figura 17, ante una dosis igual, el perfil farmacocinético puede ser muy diferente entre un paciente y otro.

Las simulaciones además permitieron mostrar que para lograr concentraciones valle  $>15$  mg/L a las 24 horas post administración de vancomicina, se necesitarían muy altas dosis con el consiguiente riesgo de generar concentraciones plasmáticas tóxicas, muy relacionadas con nefrotoxicidad y ototoxicidad para que la caída de la concentración en el tiempo permita conseguir el valor valle deseado. Bajo estas condiciones, se demuestra que la frecuencia de administración debe ser mayor y que el esquema de una dosis diaria es insuficiente.

El resultado obtenido es relevante pues muestra que a pesar de baja o nula función renal que un paciente tenga, el sistema de hemofiltración es capaz de favorecer la remoción de vancomicina antes de las 24 horas hasta alcanzar un comportamiento similar a lo observado en pacientes con función renal normal, en los que se recomienda una dosis de 1000 mg (15 mg/kg) cada 8-12 horas/día. La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (*Infectious Diseases Society of America*, IDSA) indica que la dosis de carga debería ser

entre 25 y 30 mg/kg (1750 – 2100 mg) para pacientes críticos, basado en estudios de pacientes sin un deterioro importante de la función renal.<sup>64</sup>

Debido a que los ajustes de dosis normalmente se basan en la pobre capacidad endógena de excreción renal remanente y no en la posible remoción de vancomicina extracorpórea, existe el consiguiente riesgo de subdosificación de estos pacientes.

b) *Simulación de dosis: Dosis de mantención*

La dosis de carga definida para cada velocidad de HFAV se utilizó como base para simular las siguientes dosis que permitirían alcanzar las concentraciones plasmáticas objetivo. Se evaluó un periodo de 60 horas desde la primera administración (dosis de carga) seguido de intervalos de administración cada 12 horas hasta alcanzar el estado de equilibrio. Los resultados comparativos de cada dosis sugerida respecto velocidad de HFAV se graficaron y se muestran en la Figura 26 (panel ii, iv y vi).

Nuevamente fue posible identificar que para cada velocidad de HFAV se requiere diferente dosis de vancomicina.

Se obtuvo que la dosis de mantención para una velocidad de HFAV de 69, 100 y 123 mL/kg/h debería ser de 750, 1000 y 1500 mg cada 12 horas, respectivamente.

En la Tabla 23 se muestra el esquema de dosificación propuesto, tomando en cuenta la dosis de carga seguida de infusiones intermitentes consideradas como dosis de mantención para cumplir los objetivos PK/PD asociados a efectividad terapéutica para vancomicina en pacientes críticamente enfermos.

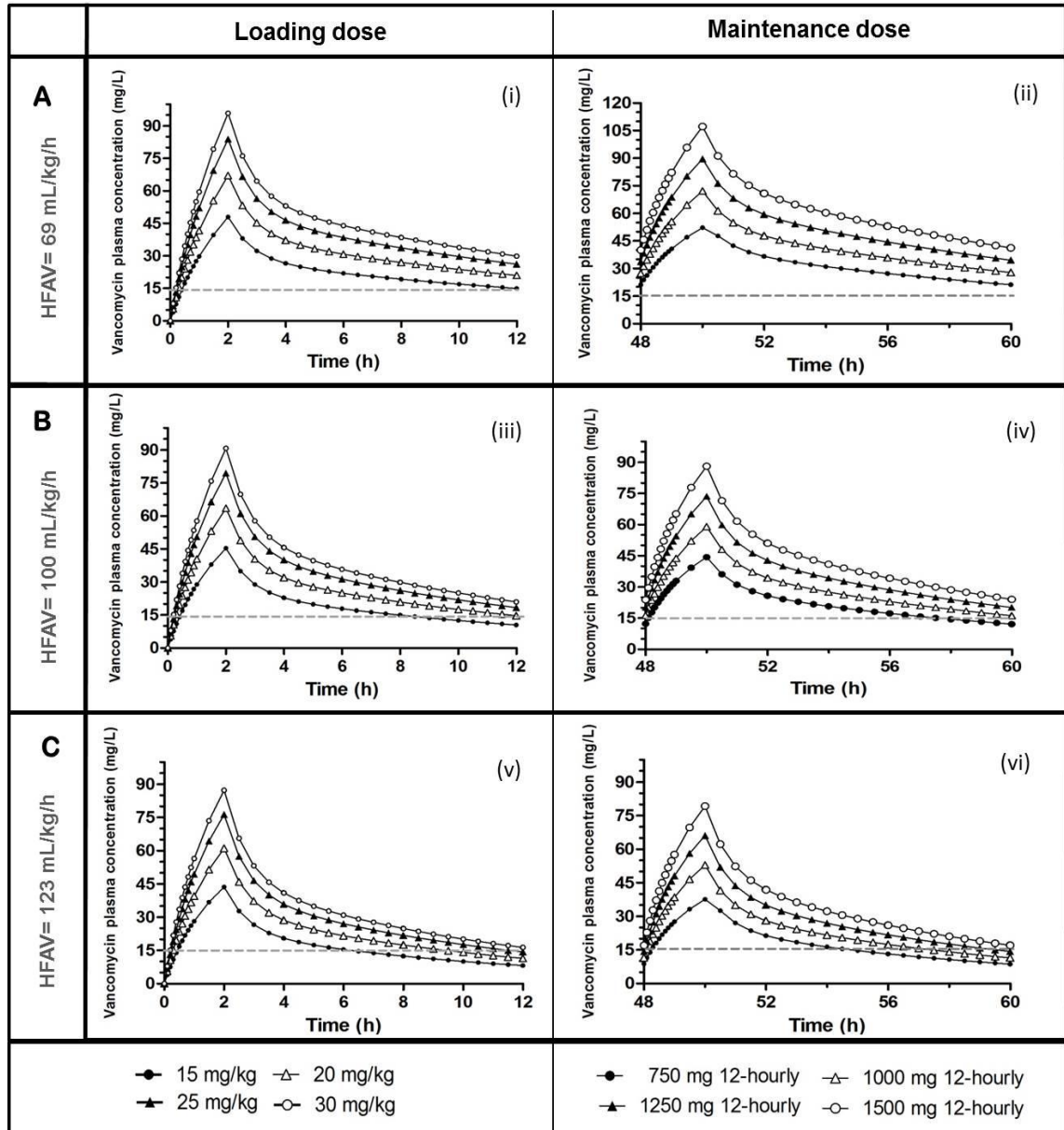
**Tabla 23. Dosificación de vancomicina según velocidad de hemofiltración obtenidos de la simulación de dosis.\***

<b>Velocidad de hemofiltración de alto volumen</b>	<b>Esquema Dosis de carga + dosis de mantención</b>
<b>69 mL/Kg/h</b>	1400 mg (20 mg/Kg)+ 750 mg cada 12 horas (10,7mg/Kg)
<b>100 mL/Kg/h</b>	1750 mg (25 mg/Kg) + 1000 mg cada 12 horas (14,3mg/Kg)
<b>123 mL/Kg/h</b>	2100 mg (30 mg/Kg) + 1500 mg cada 12 horas (21,4 mg/Kg)

\* Paciente de peso promedio de 70 Kg

Para todas las administraciones de vancomicina debe ajustarse un tiempo de infusión de 2 horas. Esta condición está reportada en la literatura que disminuye el riesgo de desarrollo de un síndrome conocido como el “hombre rojo”,<sup>95</sup> una reacción adversa asociada a la administración rápida de alta dosis de vancomicina. Sin embargo, en este caso, el tiempo de 2 horas propuesto tiene relación directa con reducir la posibilidad de alcanzar concentraciones máximas ( $C_{máx}$ ) muy altas, asociadas con toxicidad (>100 mg/L), aunque la concentración valle pueda llegar igualmente al rango esperado en el tiempo evaluado.

Figura 26. Simulación de dosis seleccionadas: Dosis de carga seguida de dosis de mantención



HFAV: Hemofiltración de alto volumen.

Panel A: Simulación para una HFAV de 69 mL/Kg/h en la que se requeriría inicialmente una (i) dosis de carga de 20 mg/kg. Luego, (ii) una dosis de mantención de 750 mg cada 12 horas.

Panel B: Simulación para una HFAV de 100 mL/Kg/h en la que se requeriría inicialmente una (iii) dosis de carga de 25 mg/kg, seguida de (iv) una dosis de mantención de 1000 mg cada 12 horas.

Panel C: Simulación para una HFAV de 123 mL/Kg/h en la que se requeriría inicialmente una (i) dosis de carga de 30 mg/kg, seguida una (ii) dosis de mantención de 1500 mg cada 12 horas

--- Concentración plasmática de vancomicina objetivo de 15 mg/L.

c) *Simulación de dosis: Infusión continua*

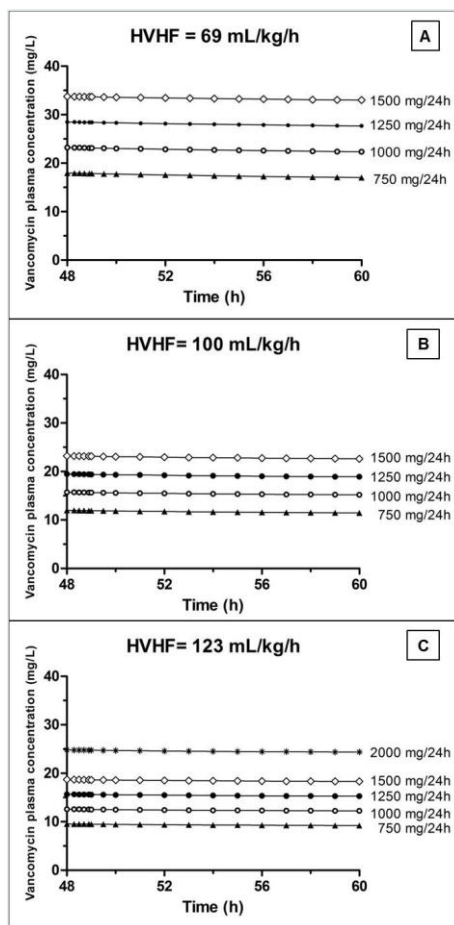
En los últimos años, el cambio de forma de administración para muchos antibióticos desde infusión intermitente a infusión continua se ha realizado utilizando previamente la simulación de dosis, que en la práctica posterior ha arrojado buenos resultados tanto farmacocinéticos como clínicos en el manejo de la infección.<sup>97-99</sup>

Esta situación se ha demostrado para aquellos antibióticos con perfil PK/PD tiempo-dependientes, como betalactámicos<sup>97,99-101</sup> y glicopéptidos<sup>86,102</sup> con el objetivo de alcanzar concentraciones estables en el tiempo, ya que requieren mantener concentraciones plasmáticas sobre la CIM al menos un 50% del intervalo de administración para su eficacia terapéutica.<sup>32</sup> En pacientes críticamente enfermos, las recomendaciones señalan que debe ser en el 100% del intervalo de dosificación.<sup>64</sup>

Aunque las representaciones gráficas de las concentraciones de vancomicina en el tiempo permiten deducir que aumentar la frecuencia de administración de bajas dosis de vancomicina podría relacionarse mejor con la mantención de concentraciones estables en el tiempo, se ha observado también que aumentar la cantidad de dosis administrada por día está relacionado a mayores errores de medicación en las Unidades de Cuidados Intensivos.<sup>103</sup>

Dado lo anterior, en este análisis se consideró realizar la simulación de dosis para una administración de vancomicina por infusión continua de 24 horas, luego de una dosis de carga previamente calculada. Los resultados de la simulación están graficados y mostrados en la Figura 27.

**Figura 27. Dosis de vancomicina por infusión continua luego de una carga**



La infusión comienza al finalizar la dosis de carga. [Vanco] objetivo = 20 – 30 mg/L. Las dosis según la velocidad de HFAV serían A: 1 g en 24 h. B: 1,5 mg en 24h. C: 2 mg en 24 h.

En términos prácticos, la administración por infusión continua de 24 horas podría ser de 4 infusiones de 500 mg en 6 h seguidas una de otra.



Finalmente, el trabajo de modelado farmacocinético poblacional y la simulación de dosis es el primer estudio del que se tiene conocimiento durante hemofiltración de alto volumen, con velocidad de sustitución  $>45$  mL/kg/h para fines hemodinámicos, que difiere de las terapias de reemplazo renal continuas normalmente realizadas.

Debido a esto, los resultados de este trabajo son relevantes y pueden constituir el fortalecimiento de líneas de investigación para optimizar la utilización de antibióticos en pacientes críticos, aunque sus proyecciones pueden ser hacia otro grupo terapéutico de interés.

El análisis farmacocinético poblacional a pesar de ser utilizado desde hace más de 30 años, está comenzando a tener aplicaciones más directas en la terapia de pacientes y es necesario mejorar las destrezas en esta área.

La estadía de investigación en la Universidad de Queensland, Australia, permitió observar directamente la utilidad de esta área para el desempeño diario de la farmacocinética clínica en UCI.

### 5.3.4.1. Resultados de la simulación.

La Tabla 24 muestra el resumen los resultados de las dosis de vancomicina sugeridas para alcanzar las concentraciones plasmáticas objetivo según las diferentes velocidades de HFAV. El tiempo de infusión de vancomicina debería ser de 2 horas para la administración.

La dosis de carga calculada debería ser la base para continuar con dosis de mantención o infusión continua.

Tabla 24. Resultado de la simulación de dosis de vancomicina durante HFAV en pacientes críticos

Dosis de HFAV (mL/kg/h)	Dosis de carga mg/kg	Dosis de mantención mg cada 12h*	Infusión continua mg diarios*
69	20	750	1250
100	25	1000	1750
123	30	1500	2000

\*Ajustado por peso (Kg)

Los resultados de este estudio farmacocinético indican que las concentraciones plasmáticas de vancomicina pueden ser inadecuadas utilizando la dosificación normalmente empleada de 1 g al día en la HFAV. Se ha observado que incluso con velocidades de hemofiltración menores, cercanas a 50 mL/Kg/h, las concentraciones plasmáticas también decaen, siendo insuficientes para los propósitos de tratamiento antibacteriano.<sup>70</sup>

El análisis farmacocinético poblacional permitió encontrar que el *clearance* de vancomicina en estas condiciones de HFAV es sorprendentemente similar a lo

mostrado por estudios previos durante hemofiltraciones con velocidades más bajas (<45 mL/kg/h).<sup>89,90,93</sup> Esta observación podría encontrar explicación en la función renal residual de los pacientes de los otros estudios, la que contribuye al *clearance* total de vancomicina. Como es conocido, el CL total de este fármaco es la suma del renal y el extracorpóreo. Por lo tanto, en pacientes oligúricos o anúricos como los observados en esta investigación la HFAV podría compensar bien la falta de función renal, convirtiéndose en la principal vía de eliminación.

Por esta razón, la velocidad de HFAV resultó ser la única covariable incluida en el modelo farmacocinético final. Este efecto ha sido también demostrado en otros estudios, aunque haya sido con velocidades muy inferiores.<sup>90,91</sup>

Dado lo anterior, claramente una dosis estándar de 1000 mg/día de vancomicina no debería emplearse en todos los pacientes por igual durante HFAV. Para evitar concentraciones plasmáticas subterapéuticas, se requeriría una dosis de carga, la que debería ser de al menos 20 mg/Kg (1400 mg). Así la dosis de mantención se ajusta según la tasa de HFAV considerando el CL que genera. Un estudio reciente sugiere una dosis de carga ligeramente inferior de 15-20 mg/Kg, seguida de una dosis de 10-15 mg/Kg cada 24 horas, considerando una HFAV de 25 mL/Kg/h en pacientes con falla renal aguda.<sup>104</sup> Comparado con ellos, la propuesta de dosificación aquí estudiada sugiere que la dosis de mantención debería por tanto ser superior y un intervalo de 12 horas.

Pese a que lo anterior ha sido bien descrito, en el último tiempo se ha evidenciado que la administración por infusión continua sería una alternativa más correcta para mantener concentraciones plasmáticas estables.<sup>86,102</sup>

El presente estudio observacional tiene la limitación del tamaño de muestra pequeño, aunque el análisis poblacional consideró 68 datos. Sin embargo, hasta ahora sigue siendo necesario obtener información que guíe la dosificación empírica durante estos procedimientos, sobre todo en los pacientes críticos con sepsis o shock séptico, particularmente porque la monitorización terapéutica de niveles plasmáticos de fármacos (*Therapeutic Drug Monitoring*, TDM) no está siempre disponible en los centros de salud del país o en los lugares donde existe, la interpretación de los resultados puede no serla correcta.

Debido a que un retraso en la obtención de las concentraciones plasmáticas terapéuticas está relacionado con impacto negativo en la salud de los pacientes, los resultados de esta investigación expresados como recomendaciones de dosis podrán mejorar la utilización de vancomicina durante la HFAV e incluso, extrapolarse a otros procedimientos de terapias de reemplazo renal actualmente empleadas.

Futuras validaciones de estas simulaciones podrán también complementar y mejorar la forma de administrar medicamentos.

---

## 6. Conclusiones

---

Este estudio fue capaz de mostrar que las concentraciones plasmáticas de vancomicina en los pacientes críticos que reciben hemofiltración de alto volumen decaen dramáticamente durante las primeras 6 horas del procedimiento.

El análisis farmacocinético poblacional realizado mostró que el *clearance* de vancomicina depende principalmente de la velocidad de hemofiltración, razón por la que fue identificada como única covariable en el modelo desarrollado.

Así, en los pacientes con deterioro de la función renal, la HFAV es la responsable de la eliminación de este antibiótico.

Además, la alta variabilidad observada en las concentraciones plasmáticas alcanzadas en los pacientes ante igual dosis administrada indica que siempre se debe individualizar la dosis, considerando principalmente las vías de eliminación del fármaco. Una dosis estándar de 1000 mg/día de vancomicina es inadecuada en estos pacientes

La dosificación de vancomicina debería ser más alta que las normalmente empleadas, y además deberían considerar una dosis de carga de al menos 20 mg/Kg, la que podría ser seguida por una dosis de mantención cada 12 horas.

Además, la duración de la infusión para la administración debería ser de al menos 2 horas. Con esto se evitaría obtener concentraciones plasmáticas tóxicas.

Por último, el esquema de administración de una dosis de carga seguida de una infusión continua es una buena alternativa para mantener concentraciones plasmáticas estables en el tiempo, facilitando el cumplimiento de los objetivos PK/PD para este antibiótico.

Los resultados obtenidos de esta tesis abren líneas de investigación en farmacocinética clínica principalmente de antimicrobianos para optimizar su uso y permitir así obtener mejores resultados clínicos.

La creciente necesidad de individualización de dosis en poblaciones especiales, más allá de los pacientes críticamente enfermos, proyecta el desarrollo de más investigación farmacocinética aplicada, siendo esta tesis sólo un ejemplo de ello.

---

## 7. Bibliografía

---

1. Robertson LC, Al-Haddad M. Recognizing the critically ill patient. *Anaesth Intensive Care Med.* 2013;14(1):11–14.
2. Dougnac A, Mercado M, Cornejo R, et al. Prevalencia de sepsis grave en las Unidades de Cuidado Intensivo . *Rev Med Chil.* 2007;135:620–630.
3. Knaus W, Draper E, Wagner D, Zimmerman J. APACHE II: A severity of disease classification system. *Crit Care Med.* 1985;13(10):818–829.
4. Vincent J, Moreno R, Takala J, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction / failure. *Intensive Care Med.* 1996;22:707–710.
5. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med.* 2003;31(4):1250–1256.
6. Angus DC, van der Poll T. Severe sepsis and septic shock. *N Engl J Med.* 2013;369(9):840–851.
7. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med.* 2013;41(2):580–637.
8. Lever A, Mackenzie I. Sepsis: definition, epidemiology, and diagnosis. *BMJ.* 2007;335(7625):879–883.
9. Daniels R. Surviving the first hours in sepsis: getting the basics right (an intensivist’s perspective). *J Antimicrob Chemother.* 2011;66 Suppl 2:ii11–23.
10. Annane D, Bellissant E, Cavaillon J-M. Septic shock. *Lancet.* 2005;365(9453):63–78.
11. O’Brien JM, Ali N a, Aberegg SK, Abraham E. Sepsis. *Am J Med.* 2007;120(12):1012–1022.

12. Valenzuela Sánchez F, Bohollo de Austria R, Monge García I, Gil Cano a. Shock séptico. *Med Intensiva*. 2005;29(3):192–200. doi:10.1016/S0210-5691(05)74227-3.
13. Olaechea P, Insausti J, Blanco A, Luque P. Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. *Med Intensiva*. 2010;34(4):256–67. doi:10.1016/j.medin.2009.11.013.
14. The World Sepsis Day. The World Sepsis Declaration. 2013:1–3. Disponible en <http://www.world-sepsis-day.org>. Consultado el 2 de mayo de 2014.
15. Llanos-Méndez A, Díaz-Molina C, Barranco-Quintana JL, García-Ortúzar, Fernandez-Crehuet R. Factores que influyen sobre la aparición de infecciones hospitalarias en los pacientes de cuidados intensivos. *Ganita Sanit*. 2004;18(3):190–196.
16. Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence*. 2014;5(1):4–11.
17. Palencia E, Bueno B. Nuevas guías de práctica clínica de la «Campaña sobrevivir a la sepsis». *Med intensiva*. 2014;37(9):600–604.
18. Rangel-Frausto MS. Sepsis: still going strong. *Arch Med Res*. 2005;36(6):672–81.
19. Kalil AA, Pinsky MR, Bailey KL. Septic Shock. *Medscape*. 2014:1–31. Disponible en : [www.medscape.com](http://www.medscape.com). Consultado el 2 de mayo de 2014.
20. Kumar A. An alternate pathophysiologic paradigm of sepsis and septic shock: implications for optimizing antimicrobial therapy. *Virulence*. 2014;5(1):80–97.
21. Bouman CSC. High-Volume Hemofiltration as Adjunctive Therapy for Sepsis and Systemic Inflammatory Response Syndrome : Background , Definition and a Descriptive Analysis of Animal and Human Studies. 2007:47–57.
22. Honoré PM, Joannes-boyau O, Gressens B. Blood and Plasma Treatments : The Rationale of High-Volume Hemofiltration. *Contrib Nephrol Basel*. 2007;156:387-395.



23. Rimmelé T, Kellum JA. High-volume Hemofiltration in the Intensive Care Unit. *Anaesthesiology*. 2012;116(6):1377–1387.
24. Romero CM, Downey P, Hernández G. High volume hemofiltration in septic shock. *Med Intensiva*. 2010;34(5):345–352.
25. Ronco C, Tetta C, Mariano F, et al. Interpreting the mechanisms of continuous renal replacement therapy in sepsis: the peak concentration hypothesis. *Artif Organs*. 2003;27(9):792–801.
26. Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*. 2013;39(2):165–228.
27. Morrell MR, Micek ST, Kollef MH. The management of severe sepsis and septic shock. *Infect Dis Clin North Am*. 2009;23(3):485–501.
28. World Sepsis Day. Saving lives: Treating Sepsis in the Golden Hour. *Save lives treat sepsis golden hour*. 2013:1–2. Disponible en: [www.world-sepsis-day.org](http://www.world-sepsis-day.org).
29. Pea F, Viale P, Furlanut M. Antimicrobial therapy in critically ill patients: a review of pathophysiological conditions responsible for altered disposition and pharmacokinetic variability. *Clin Pharmacokinet*. 2005;44(10):1009–1034.
30. Owens RC, Shorr AF. Rational dosing of antimicrobial agents: pharmacokinetic and pharmacodynamic strategies. *Am J Health Syst Pharm*. 2009;66(12 Suppl 4):S23–30.
31. Smith BS, Yogaratnam D, Levasseur-Franklin KE, Forni A, Fong J. Introduction to drug pharmacokinetics in the critically ill patient. *Chest*. 2012;141(5):1327–1336.
32. Escobar L, Gai MN, Regueira T, Andresen M. Consideraciones farmacocinéticas en el paciente crítico. *Rev Med Chil*. 2012:780–788.
33. Venkataraman R, Kellum JA. Sepsis: update in the management. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2013;20(1):6–13.
34. Lameire NH, Bagga A, Cruz D, et al. Acute kidney injury: an increasing global concern. *Lancet*. 2013;382(9887):170–179.

35. Lango R, Klajbor K, Rogowski J. High-Volume hemofiltration as rescue therapy for refractory shock after inadvertent rapid aprotinin administration. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 2009;23(4):526–528.
36. Honore PM, Willem J, Collin V. High-Volume Hemofiltration in Sepsis and SIRS : Current Concepts and Future. 2009:1–11.
37. Tapia P, Chinchón E, Morales D, Stehberg J, Simon F. Effectiveness of short-term 6-hour high-volume hemofiltration during refractory severe septic shock. *J Trauma Acute Care Surg.* 2012;72(5):1228–1237; discussion 1237–8.
38. Rogiers P. High-volume hemofiltration in septic shock. *Crit Care.* 2005;9:329–330.
39. Cornejo R, Downey P, Castro R, et al. High-volume hemofiltration as salvage therapy in severe hyperdynamic septic shock. *Intensive Care Med.* 2006;32(5):713–722.
40. Borthwick E, Hill C, Rabindranath K, Maxwell A, McAuley D, Blackwood B. High-volume haemofiltration for sepsis (Review). *Cochrane Libr.* 2013;(2).
41. Clark E, Molnar AO, Joannes-Boyau O, Honoré PM, Sikora L, Bagshaw SM. High-volume hemofiltration for septic acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2014;18(1):R7.
42. Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, et al. Super high flux hemofiltration: a new technique for cytokine removal. *Intensive Care Med.* 2002;28(5):651–655.
43. Pea F, Viale P, Pavan F, Furlanut M. Pharmacokinetic considerations for antimicrobial therapy in patients receiving renal replacement therapy. *Clin Pharmacokinet.* 2007;46(12):997–1038.
44. Golper T, Berns J, Sheridan AM. Drug removal during continuous renal replacement therapy. *Up to Date.* Disponible en [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com). Consultado el 4 de noviembre de 2013.
45. Lodise TP, Drusano G. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics : Optimal antimicrobial therapy in the Intensive Care Unit. *Crit Care Clin.* 2011;27(1):1–18. doi:10.1016/j.ccc.2010.11.003.

46. Li AMMY, Gomersall CD, Choi G, Tian Q, Joynt GM, Lipman J. A systematic review of antibiotic dosing regimens for septic patients receiving continuous renal replacement therapy: do current studies supply sufficient data? *J Antimicrob Chemother.* 2009;64(5):929–37. doi:10.1093/jac/dkp302.
47. Choi G, Gomersall CD, Tian Q, Joynt G, Li AM, Lipman J. Principles of antibacterial dosing in continuous renal replacement therapy. *Blood Purif.* 2010;30:195–212.
48. Bilgrami I, Roberts J, Wallis S, et al. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis receiving high-volume continuous venovenous hemofiltration. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(7):2974–2978.
49. Power BM, Forbes a M, van Heerden P V, Ilett KF. Pharmacokinetics of drugs used in critically ill adults. *Clin Pharmacokinet.* 1998;34(1):25–56.
50. Udy AA, Roberts JA, Lipman J. Clinical implications of antibiotic pharmacokinetic principles in the critically ill. *Intensive Care Med.* 2013;39(12):2070-2082.
51. Roberts D, RI H. Drug absorption, distribution, metabolism and excretion considerations in critically ill adults . *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2013;9(9):1067–1084.
52. Varghese JM, Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill patients. *Curr Opin Anaesthesiol.* 2010;23:472–478.
53. Boucher B A, Wood GC, Swanson JM. Pharmacokinetic changes in critical illness. *Crit Care Clin.* 2006;22(2):255–711
54. Ulldemolins M, Roberts JA, Rello J, Paterson D, Lipman J. The Effects of Hypoalbuminaemia on optimizing antibacterial dosing in critically ill patients. *Clin Pharmacokinet.* 2011;50(2):99–110.
55. Udy AA, Roberts JA, Boots RJ, Paterson DLI, Lipman J. Augmented renal clearance: implications for antibacterial dosing in the critically ill. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(1):1–16.
56. Gilbert DN, Moellering RC, Chambers HF, Saag MS. *La Guía Sanford para el tratamiento antimicrobiano.* 43rd Ed. Sperryville: Antimicrobial Therapy, INC.; 2013:429.

57. Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer J, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am Soc Heal Pharm*. 2009;31(1):551–566.
58. Hammett-stabler CA, Johns T. Laboratory guidelines for monitoring of antimicrobial drugs. *Clin Chem* 1998;44(5):1129–1140.
59. Levine DP. Vancomycin: a history. *Clin Infect Dis*. 2006;42 Suppl 1:S5–12.
60. The Pubchem Project. National Center for Biotechnology Information. PubChem Substance Database; Vancomycin. Compound summary. [http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=14969&loc=e\\_c\\_rcs](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=14969&loc=e_c_rcs) . Consultado el 20 de marzo de 2014.
61. Goodman L, Alfred G. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9° ed. Mc Graw Hill;páginas :1215–1216.
62. Magiorakos A, Srinivasan A, Carey R, et al. Multidrug- resistant, extensible y drug- resistan and la drug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definidores. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:268–281.
63. Drew RH, Hooper FDC, Baron EL. Vancomycin dosing and serum concentration monitoring in adults. *Up to Date*. 2014:1–11. Disponible en [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com). Consultado el 25 de enero de 2014.
64. Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer JC, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients : A consensus review of the American Diseases Society of America , and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Am J Heal Pharm*. 2009;66:82–98.
65. Fernández de Gatta M, Revilla N, Calvo MV, Domínguez-gil A, Sánchez A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of vancomycin in ICU patients. *Intensive Care Med*. 2007;33:279–28.
66. Roberts JA, Norris R, Paterson DL, Martin JH. Therapeutic drug monitoring of antimicrobials. *Br J Clin Pharmacol*. 2012;73(1):27–36.
67. Bonate P. *Pharmacokinetic - Pharmacodynamic Modeling and Simulation*. 2nd Ed. London: Springer; 2011:618.

68. Bauer L. *Clinical Pharmacokinetics*. Segunda Ed.. Washington: Mc Graw Hill; 2008:826.
69. Dipiro J, Spruill W, Wade W, Bouin R, Pruemmer J. *Concept in clinical pharmacokinetics*. 4° Ed.; 2005.
70. Paciullo C a, Harned KC, Davis G a, Connor MJ, Winstead PS. Vancomycin clearance in high-volume venovenous hemofiltration. *Ann Pharmacother*. 2013;47(3):e14.
71. Quale JM, Halloran JJO, Devincenzo N, Barth RH. Removal of Vancomycin by high-flux hemodialysis membranes. 1992;36(7):1424–1426.
72. Petejova N, Martinek A, Zahalkova J, et al. Vancomycin pharmacokinetics during high-volume continuous venovenous hemofiltration in critically ill septic patients. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2014;158(1):65-72.
73. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development. *CPT pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2012;1(July):e6.
74. Keizer RJ, Karlsson MO, Hooker a. Modeling and Simulation Workbench for NONMEM: Tutorial on Pirana, PsN, and Xpose. *CPT pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013;2(November 2012):e50. doi:10.1038/psp.2013.24.
75. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013;2(April):e38.
76. República de Chile. *Ley n°20120. Sobre la Investigación científica en el ser humano, su genoma y prohíbe la clonación humana*. Biblioteca del Congreso Nacional de Chile; 2006. Disponible en: <http://www.leychile.cl>.
77. World Medical Association (WMA). *Declaration of Helsinki. Ethical principles for medical research involving human subjects*. Findalndia; 2009:403–5. Disponible en: [www.wma.net](http://www.wma.net).
78. International Conference of Harmonisation (ICH). *Guideline for Good Clinical Practice*.; mayo de 1996. Disponible en [www.ich.org](http://www.ich.org).

79. Instituto de Salud Pública (ISP). *Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: Aspectos generales sobre la validación de métodos*. Santiago de Chile; 2010. Disponible en [www.ispch.cl](http://www.ispch.cl).
80. FDA. *Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation*. 2001. Disponible en [www.fda.gov](http://www.fda.gov).
81. EMA. *Guideline on bioanalytical method validation*. 2011. Disponible en: [www.ema.europa.eu](http://www.ema.europa.eu).
82. Galanti LM, Hecq JD, Vanbeckbergen D, Jamart J. Long-term stability of vancomycin hydrochloride in intravenous infusions. *J Clin Pharm Ther*. 1997;22(5-6):353–6.
83. Ensom MHH, Decarie D, Lakhani A. Stability of vancomycin 25 mg/mL in ora-sweet and water in unit-dose cups and plastic bottles at 4°C and 25°C. *Can J Hosp Pharm*. 2010;63(5):366–372
84. Loyd A. Stability of Extemporaneously Prepared Oral Liquid Formulations – Part IX. *Curr Pract Compd Inf Pharm*. 2012;17(1):2–6.
85. Liu Y, Hess E. Determination of vancomycin in human plasma using LC/MS/MS. Disponible en [www.tandemlabs.com](http://www.tandemlabs.com). Consultado el 23 de mayo de 2012
86. Roberts JA, Taccone FS, Udy AA, Vincent J-L, Jacobs F, Lipman J. Vancomycin dosing in critically ill patients: robust methods for improved continuous-infusion regimens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(6):2704–2709.
87. Uchino S, Cole L, Morimatsu H, Goldsmith D, Bellomo R. Clearance of vancomycin during high-volume haemofiltration: impact of pre-dilution. *Intensive Care Med*. 2002;28(11):1664–1667.
88. Chaijamorn W, Jitsurong A, Wiwattanawongsa K, Wanakamane U, Dandecha P. Vancomycin clearance during continuous venovenous haemofiltration in critically ill patients. *Int J Antimicrob Agents*. 2011;38(2):152–156.
89. Frazee EN, Kuper PJ, Schramm GE, et al. Effect of continuous venovenous hemofiltration dose on achievement of adequate vancomycin

- trough concentrations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(12):6181–6185.
90. Udy AA, Covajes C, Taccone FS, et al. Can population pharmacokinetic modelling guide vancomycin dosing during continuous renal replacement therapy in critically ill patients? *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41(6):564–568.
  91. JJoy MS, Matzke GR, Frye RF, Palevsky PM. Determinants of vancomycin clearance by continuous venovenous hemofiltration and continuous venovenous hemodialysis. *Am J kidney Dis.* 1998;31(6):1019–1027.
  92. McKenzie C. Antibiotic dosing in critical illness. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66 Suppl 2:ii25–31.
  93. Boereboom FTJ, Ververs FFT, Blankestijn PJ, Savelkoul TJF, van Dijk A, Dijk A Van. Vancomycin clearance during continuous venovenous haemofiltration in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 1999;25(10):1100–1104.
  94. Kullar R, Davis SL, Levine DP, Rybak MJ. Impact of vancomycin exposure on outcomes in patients with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia: support for consensus guidelines suggested targets. *Clin Infect Dis.* 2011;52(8):975–981.
  95. Healy D, Sahai J, Fuller S, Polk RE. Vancomycin-induced histamine release and “red man syndrome”: Comparison of 1- and 2-hour infusions. *Antimicrob Agents Chemother* 1990;34(4):550-554.
  96. Arnold HM, Hollands JM, Skrupky LP, et al. Prolonged infusion antibiotics for suspected gram-negative infections in the ICU: a before-after study. *Ann Pharmacother.* 2013;47(2):170–180.
  97. Dulhunty JM, Roberts JA, Davis JS, et al. Continuous infusion of beta-lactam antibiotics in severe sepsis: a multicenter double-blind, randomized controlled trial. *Clin Infect Dis.* 2013;56(2):236–244.
  98. DeIDot ME, Lipman J, Tett SE. Vancomycin pharmacokinetics in critically ill patients receiving continuous venovenous haemodiafiltration. *Br J Clin Pharmacol.* 2004;58(3):259–68.

99. Moriyama B, Henning S, Neuhauser M, Danner R, Walsh T. Continuous-infusion beta-lactam antibiotics during continuous venovenous hemofiltration for the treatment of resistant gram-negative bacteria. *Ann Pharmacother.* 2009;43(7):1324–37.
100. Roberts JA, Uildemolins M, Roberts MS, et al. Therapeutic drug monitoring of beta-lactams in critically ill patients: proof of concept. *Int J Antimicrob Agents.* 2010;36(4):332–9.
101. Gonçalves-Pereira J, Póvoa P. Antibiotics in critically ill patients: a systematic review of the pharmacokinetics of  $\beta$ -lactams. *Crit Care.* 2011;15(5):R206.
102. Covajes C, Scolletta S, Penaccini L, et al. Continuous infusion of vancomycin in septic patients receiving continuous renal replacement therapy. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41(3):261–6.
103. Salazar N, Jirón M, Escobar L, Tobar E, Romero C. Errores de medicación en pacientes críticos adultos de un hospital universitario. Estudio prospectivo y aleatorio. *Rev Med Chil.* 2011:1458–1464.
104. Scoville B, Mueller B. Medication dosing in critically ill patients with acute kidney injury treated with renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis.* 2013;61(3):490–500.

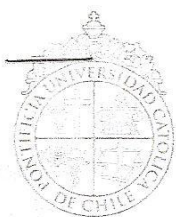


---

## 8. Anexos

---

1. Aprobación del Comité Ético-Científico del Hospital Clínico de la Universidad Católica de Chile.
2. Consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética institucional para el reclutamiento de pacientes en el Hospital Clínico Universidad Católica de Chile.
3. Ficha de recolección de datos de los pacientes reclutados.
4. Artículo: Aspectos farmacocinéticos en el paciente crítico. Revisión publicada en la Revista Médica de Chile.
5. Artículo: *Population pharmacokinetics and dose simulation of vancomycin in critically ill patients during high-volume haemofiltration*. Principales resultados del estudio publicado en *International Journal of Antimicrobial Agents*.



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE MEDICINA - COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



Santiago, 07 de diciembre de 2010

**SE APROBÓ EL SIGUIENTE PROYECTO**

**Número Proyecto: 10-176**

**Investigador Responsable:** Regueira, Tomás Departamento de Medicina Intensiva del Adulto

**Título Proyecto:** Estudio farmacocinético de imipenem, cefepime y vancomicina en pacientes sometidos a hemofiltración de alto volumen en una Unidad de Cuidados Intensivos.

**Financiamiento:** Fondos Departamentales

**Se acusa recibo de los siguientes documentos :**

- Carta del investigador Responsable solicitando la revisión y aprobación del estudio en referencia.
- Carta de respaldo del Jefe de Departamento de medicina intensiva, Dr. Max Andresen

**Documentos para revisión por el comité :**

- Protocolo de investigación en referencia.
- Documento de consentimiento informado.

**Resolución del CEI Med UC :**

Este proyecto ha sido aprobado con fecha 07 de diciembre y tiene vigencia de un año. A contar del 06 de diciembre de 2011 el Investigador Responsable deberá solicitar al Comité de Ética la renovación anual si desea continuar con el Estudio.

Por favor lea cuidadosamente la hoja anexa a esta carta, en la que se indican todas sus responsabilidades como Investigador Responsable en este Estudio.

Se le solicita en toda futura correspondencia hacer referencia al número del Proyecto asignado 10-176

Le saluda atentamente,

  
**DR. EDUARDO GUARDA SALAZAR**  
 - Presidente CEI-MedUC



EN CASO DE CUALQUIER DUDA SE LE SOLICITA CONTACTARSE CON EL CEI-MedUC  
Se certifica que la información contenida en el presente documento es correcta y que refleja el acata del Comité de Ética en Investigación de la Escuela de Medicina (CEI-MedUC). Este Comité adhiere a los principios éticos de Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica, que considera como norma fundamental el respeto a la dignidad de la persona humana en cualquier condición, desde el momento de la concepción hasta la muerte natural. Este comité cumple además con las guías de buena práctica clínica definidas por la conferencia internacional de armonización (GCP-ICH); y con las leyes chilenas 20.120 y 19.628 sobre protección de la vida privada o protección de datos de carácter personal.



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE MEDICINA - COMITÉ DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN



Santiago, 15 de diciembre de 2011

**SE APROBÓ RENOVACION ANUAL**

**Número Proyecto: 10-176**

**Investigador Responsable:** Regueira, Tomas  
Departamento de Medicina Intensiva del Adulto.

**Financiamiento:** Fondos departamentales

**Título Protocolo** Estudio farmacocinético de imipenem, cefepime y vancomicina en pacientes sometidos a hemofiltración de alto volumen en una Unidad de Cuidados Intensivos.

**Se acusa recibo de los siguientes documentos:**  
Carta del investigador responsable solicitando la renovación anual del estudio en referencia

**Documentos revisados y aprobados por el comité:**  
Informe anual del Estudio.

**Resolución del CEI Med UC :**  
Se aprueba renovación anual del estudio con fecha 15 de diciembre de 2011.

Se le solicita en toda futura correspondencia hacer referencia al número del Proyecto asignado **10-176**

Le saluda atentamente,

*[Handwritten signature]*  
**DRA SANDRA BRAUN JONES**  
Presidente CEI-MedUC (S)



EN CASO DE CUALQUIER DUDA SE LE SOLICITA CONTACTARSE CON EL CEI-MedUC  
Se certifica que la información contenida en el presente documento es correcta y que refleja el acata del Comité de Ética en Investigación de la Escuela de Medicina (CEI-MedUC). Este Comité adhiere a los principios éticos de Escuela de Medicina de la Pontificia Universidad Católica, que considera como norma fundamental el respeto a la dignidad de la persona humana en cualquier condición, desde el momento de la concepción hasta la muerte natural. Este comité cumple además con las guías de buena práctica clínica definidas por la conferencia internacional de armonización (GCP-ICH); y con las leyes chilenas 20.120 y 19.628 sobre protección de la vida privada o protección de datos de carácter personal.

MARCOLETA 391  
8330024 - SANTIAGO, CHILE  
FONO: [56-2] 354 8173 - FAX: [56-2] 632 1924

etica.investigacion@med.puc.cl

# ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE PACIENTES UCI EN HFAV

## Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

Anexo 3

Datos del paciente					
	Fecha de ingreso: _____		Sexo: 1. Hombre 2. Mujer <input type="checkbox"/>		
	Hospital	UCI			
	_____		Cama	Fecha muestreo	Turno
APACHE II _____		SOFA _____		Diagnóstico de ingreso a UCI _____	
				Código asignado <span style="border: 1px solid black; display: inline-block; width: 50px; height: 20px;"></span>	
Otros: _____					

Hemofiltración					
Velocidad de flujo QB	Velocidad de sustitución	S M L, m <sup>2</sup>	Vía de acceso	Tasa de HF mL/hr	Tiempo de HF
Enfermera procedimiento _____		pulso/continuo/intermitente	Volumen orina: _____		Hora de inicio HF _____
		Inicial	Final	S. Foley	Hora de término HF _____
Peso: _____					
Inicial		Final			

Exámenes de laboratorio											
Fecha						Fecha					
Sodio						Hematocrito					
Potasio						Hemoglobina					
Cloro						Eritrocitos					
Creatininemia						Leucocitos					
Albúmina plasmática						VCM					
Nitrógeno uréico											
Laclato											

Cultivos: \_\_\_\_\_

Medicamentos						
Antibióticos	Posología	Vía	Hora administrada día de HF	Fecha Inicio tratamiento	Dosis previa (día, dosis, horario)	Observaciones
Vancomicina						
Imipenem						
Últimas 24 horas						
Fármaco	Posología	Hora	Fármaco	Posología	Hora	
1			11			
2			12			
3			13			
4			14			
5			15			
6			16			
7			17			

# ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE PACIENTES UCI EN HFAV

## Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

8	18				
9	19				
10	20				
<b>Medicamentos durante la HF</b>					
Fármaco	Posología	Hora	Fármaco	Posología	Hora
1			11		
2			12		
3			13		
4			14		
5			15		
6			16		
7			17		
8			18		
9			19		
10			20		

### **Muestreo:**

15-30-60 minutos / 2, 4, 6, 9, 12 horas

15-30-60 minutos / 2,3,4,5,6 horas

<b>Muestras hemofiltrado</b>												
Bolsa n°	Hora inicio	Hora término	Duración intervalo	Volumen HF (litros)		Volumen UF (mL)		Volumen (mL)		Velocidad de sustitución	Tasa de UF	Tiempo de la terapia
				acumulado	Intervalo	acumulado	Intervalo	MOPS	Muestra			
1												
2												
3												
4												
5												
6												
7												
8												

Cociente tamizaje

Describir procedimiento:

---



---



---



---



---



---



---



---

# ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE PACIENTES UCI EN HFAV

## Doctorado en Ciencias Farmacéuticas

Registro de extracción de muestras desde sistema de hemofiltración								
	Hora reloj	Tiempo de la terapia (equipo)	Tipo de muestra			Nombre muestra	Volumen muestra (mL)	Observaciones
			Pre filtro	Post filtro	HF + MES*			
1			X			Basal		
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
9								
10								
11								
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19								
20								
21								
22								
23								
24								
25								
26								
27								
28								
29								

\* Muestras de HF con MES como estabilizante relación 1:1 v/v. Registrar volumen de la muestra y volumen de MES agregado.

Proyecto: farmacocinética en hemofiltración de alto volumen. Centro de costo: 830. Dr. Andresen Teléfono: 3543265 Convenio 7000000176. Prestaciones: 1834+2067

## Consideraciones farmacocinéticas en el paciente crítico

LESLIE ESCOBAR<sup>1,a</sup>, MARÍA NELLA GAI<sup>1,b</sup>,  
TOMÁS REGUEIRA PhD<sup>2</sup>, MAX ANDRESEN MSC<sup>2</sup>

### Pharmacokinetics considerations in critically ill patients

*Critically ill patients in Intensive Care Units (ICUs) are exposed to multiple procedures and usually require complex treatment regimens. Many of them suffer from comorbidities and different complications such as organ failure, drug-drug interactions, and unusual therapeutic interventions that can produce significant pathophysiologic changes. For that reason, pharmacokinetics for several substances is different to what is described for healthy patients, complicating drug selection and drug dosage to achieve appropriate effects. Low doses may determine a reduction of drug effectiveness and overdoses leading to toxicity. The aim of this paper is to review the pharmacokinetic considerations that must be considered when treating acute ICU patients.*

(Rev Med Chile 2012; 140: 780-788).

**Key words:** Drug toxicity; Intensive care units; Pharmacokinetics.

<sup>1</sup>Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Santiago de Chile.

<sup>2</sup>Departamento de Medicina Intensiva, Facultad de Medicina. Hospital Clínico. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Santiago de Chile. <sup>a</sup>Químico Farmacéutico. Doctorando en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Chile. <sup>b</sup>Químico Farmacéutico. Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Universidad de Chile.

Este trabajo es parte del proyecto de investigación interdepartamental "Farmacocinética de antibióticos en pacientes en shock séptico sometidos a hemofiltración de alto volumen, de los Departamentos de Medicina Intensiva y Nefrología de la Pontificia Universidad Católica, y parte del trabajo de Tesis Doctoral de uno de los autores (1a). Financiamiento Dirección de Investigación Facultad de Medicina y Departamentos de Medicina Intensiva y Nefrología Facultad de Medicina Pontificia Universidad Católica de Chile.

Recibido el 30 de junio de 2011, aceptado el 18 de octubre de 2011

Correspondencia a: Dr. Max Andresen Departamento de Medicina Intensiva.

Facultad de Medicina. Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta N° 347. Santiago de Chile. E-mail: andresen@med.puc.cl

El término "farmacocinética" fue acuñado en los años treinta a raíz de estudios sobre la disposición de fármacos administrados por distintas vías. La relación existente entre la concentración plasmática de un fármaco en el tiempo, generada por los procesos ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción), ha conseguido actualmente utilizar la farmacocinética como una herramienta que permite aumentar la efectividad o reducir la toxicidad de una terapia, ya sea en un paciente individual o en un grupo especial de pacientes<sup>1</sup>.

En la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) la administración correcta de medicamentos es un desafío diario, dado que los cambios fisiopatológicos propios de los pacientes en estado crítico crean situaciones donde la información farmacocinética, obtenida de pacientes menos graves o sanos, no se ajusta a su situación.

Lo anterior se expresa como cambios en uno o varios parámetros farmacocinéticos, ya sea el

volumen de distribución (Vd), el tiempo de vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ ), la concentración máxima ( $C_{max}$ ) o el *clearance* (Cl), entre otros. Esto, como consecuencia de disfunciones orgánicas, interacciones entre fármacos, respuesta de fase aguda o intervenciones terapéuticas agresivas, como por ejemplo, la reanimación con volumen o las terapias de reemplazo renal (TRR), tema de estudio de nuestro grupo de investigación. De ahí que el proceso ADME es particularmente diferente al descrito en situaciones normales (Tabla 1)<sup>2-4</sup>. Por lo anterior, la aplicación de la farmacocinética clínica aparece como herramienta útil para optimizar la terapia farmacológica, limitando los efectos adversos por sobredosificación y/o evitando in-efectividad por subdosificación en estos pacientes.

El objetivo de la presente revisión es describir y discutir aquellas situaciones propias del paciente en estado crítico que pueden alterar la respuesta terapéutica esperada debido a cambios en la farmacocinética.

Tabla 1. Parámetros farmacocinéticos alterados en el paciente crítico

Parámetro farmacocinético		Situación en el paciente crítico
Biodisponibilidad (BD)	Porcentaje de la dosis que es capaz de alcanzar la sangre luego de absorberse en el lugar de administración del medicamento	Alterada. Normalmente es menor porque la capacidad de absorción disminuye
Unión a proteínas plasmáticas	Porcentaje de fármaco que está unido a proteínas, como albúmina	Disminuye. Frecuente reducción de la cantidad de proteínas favorece un aumento la fracción de fármaco libre
Volumen de distribución (Vd)	Volumen donde se encuentra la cantidad de fármaco total administrado	Aumentado. Mayor permeabilidad capilar y mayor aporte de fluidos generan un tercer espacio de distribución de fármacos
Metabolismo	Proceso del ADME que tiene por finalidad, hacer excretables los fármacos administrados	Disminuido. La respuesta será variable según los metabolitos que se formen. Si son activos, es posible que la respuesta disminuya. Si no, la respuesta se prolongará en el tiempo
Vida media de eliminación ( $t_{1/2}$ )	Tiempo en que la concentración plasmática de un fármaco se reduce a la mitad	Normalmente aumentada. Se relaciona inversamente con el CI
Clearance renal (CI)	Parámetro que da cuenta de la capacidad de eliminación del fármaco desde la sangre. Volumen de sangre que es depurada por minuto	Variable. En las primeras etapas de trauma o sepsis, está aumentado. Posteriormente, podría ocurrir falla renal que disminuya el CI

## Caracterización del ADME en el paciente crítico

### Absorción

La biodisponibilidad (BD) es el porcentaje de la dosis del fármaco administrado que alcanza la circulación sanguínea luego de absorberse. Sólo la administración endovenosa garantiza el 100% de BD, sin embargo, no todos los fármacos pueden administrarse por esa vía. Por esto, aquellos medicamentos que requieren absorción en el sitio de administración (vía enteral, intramuscular, subcutánea, sublingual, etc.) pueden afectarse particularmente en el estado crítico.

Cuando empleamos la vía enteral, la absorción del fármaco puede disminuir debido a cambios en la motilidad gastrointestinal o a reducción de la superficie de contacto de las mucosas. La primera situación puede afectarse por el uso concomitante de opiáceos, empleados frecuentemente para sedoanalgesia y por fármacos con efecto anticolinérgico, a modo de ejemplo, en intoxicaciones graves por antidepressivos tricíclicos. La segunda situación se debe a una disminución en la cantidad y altura de las microvellosidades intestinales, como consecuencia del ayuno prolongado y/o hipoperfusión, muy frecuente en los pacientes de UCIs<sup>2-4</sup>.

La redistribución del flujo sanguíneo hacia el cerebro, corazón y pulmones en estados de hipoperfusión, en desmedro de territorios como la piel, músculos, así como hígado o riñón, explica la menor BD encontrada tras la administración por vía dérmica, intramuscular o subcutánea<sup>2,4</sup>. Por ejemplo, el uso de enoxaparina subcutánea como prevención de trombosis en la dosis habitual de 40 mg, se asoció con niveles subterapéuticos de actividad anti-factor Xa causados por problemas de absorción en pacientes de UCI<sup>5</sup>.

### Distribución

El volumen de distribución (Vd) es la relación entre la cantidad de fármaco total presente en un organismo y la concentración plasmática que esa cantidad genera. Es un parámetro propio de cada sustancia, según sus características fisico-químicas (pKa, tamaño molecular, lipofilicidad/ hidrofiliicidad, porcentaje de unión a proteínas plasmáticas, etc.)<sup>1</sup>. Algunas condiciones en el paciente crítico, como procesos inflamatorios sépticos o no sépticos, favorecen la salida de fluidos desde el espacio intravascular hacia el intersticial, por mayor permeabilidad capilar (*capillary leak syndrome*) creando un "tercer espacio"<sup>2,6,7</sup> similar a lo que ocurre en casos de edema, ascitis o



derrame pleural. Esta situación explica el mayor Vd para fármacos hidrofílicos como antibióticos  $\beta$ -lactámicos, glicopéptidos y aminoglicósidos, los que serán más abundantes en ese espacio que en el plasma<sup>3,6,7</sup>. Ese desplazamiento del fármaco cambia el equilibrio de concentración plasma/tejidos, determinando que la concentración plasmática no sea el mejor indicador de las concentraciones alcanzadas. Con los antimicrobianos, lo más correcto sería determinarla en el sitio de la infección, sin embargo, son pocos los estudios disponibles con esa información. La propuesta de realizar microdiálisis en el tejido infectado y medir la concentración de antimicrobiano libre, aparece como una posible alternativa<sup>8</sup>. Otras situaciones que aumentan el Vd son la administración de fluidos (coloides o cristaloides) y la hipoalbuminemia. La primera aporta más volumen donde los fármacos se dispongan. En la segunda, una mayor fracción de fármaco libre podría penetrar a otros tejidos y distribuirse en ellos<sup>2,3,9</sup>.

### Metabolismo

El principal objetivo del metabolismo de fármacos activos, liposolubles y no excretables, es convertirlos en hidrosolubles, inactivos y excretables<sup>1,10</sup>. El hígado es el principal órgano responsable del metabolismo y eliminación de muchos fármacos, identificándose dos fases en este proceso: Fase I, caracterizada por reacciones de oxidación que involucran al sistema enzimático citocromo P-450 (CYP) y la Fase II, conocida como fase de conjugación. Las enzimas de Fase I son menos abundantes que las de Fase II, y son afectadas en mayor medida por enfermedades o estrés celular, lo que las convierte en la etapa limitante del metabolismo de fármacos<sup>10</sup>. En el paciente crítico, la cantidad o actividad de estas enzimas se modifica por hipoxia, hipoperfusión hepática, liberación de citoquinas (presentes en procesos inflamatorios), estrés asociado a la hospitalización y también por los aportes nutricionales<sup>2,3,10</sup>.

Se describen muchos factores que alteran el metabolismo de fármacos, tanto ambientales como por interacción con otros fármacos (inhibidores o inductores enzimáticos), haciendo difícil predecir cómo será la biotransformación en el paciente crítico. Se ha propuesto estudiar la farmacocinética de los metabolitos de midazolam, ya que servirían como predictores del metabolismo hepático al requerir las enzimas de fase I y II

para su formación<sup>3,10,11</sup>. En fármacos como remi-fentanilo y otros con metabolismo no hepático (extra-hepático), resulta más difícil saber cómo cambiará la biotransformación, independiente del paciente<sup>10</sup>.

### Excreción

El *clearance* (Cl), o aclaramiento, es el parámetro cinético que considera la sumatoria de todos los procesos que participan en la remoción y eliminación de la fracción libre del fármaco y sus metabolitos desde el plasma, siendo el componente renal el más importante para la mayoría de los fármacos ( $Cl_{renal}$ ). Utilizando fórmulas como la Cockcroft-Gault (CG) o Modification of Diet in Renal Disease (MDRD), se puede estimar la función renal según los niveles de creatinina plasmática y relacionar la capacidad de excreción de fármacos, siempre que la modificación de la creatinemia se deba principalmente a una disminución de la función renal<sup>12,13</sup>.

Conocemos que el deterioro agudo de la función renal se asocia a mayor morbimortalidad y es altamente frecuente en UCI<sup>14</sup>, aumentando con ello el riesgo de sobredosificación, llegando incluso a rangos tóxicos. De ahí que es necesario ser muy precisos en el ajuste de dosis según la función renal remanente<sup>12</sup>. No obstante, se ha observado un aumento del  $Cl_{renal}$  en ciertos pacientes críticos: grandes quemados, en estados hipermetabólicos o en las etapas iniciales del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, necesitando mayores dosis para evitar concentraciones subterapéuticas, situación que normalmente es indetectable<sup>15</sup>.

En general, fármacos hidrofílicos o levemente lipofílicos y excretados por vía renal, deben ser considerados de alto riesgo de presentar fluctuaciones en sus concentraciones plasmáticas, requiriendo repetidos ajustes de dosis<sup>3,4,7</sup>.

En pacientes sometidos a terapias de reemplazo renal (como hemodiálisis, hemofiltración u otras), existe una importante excreción de fármacos<sup>16</sup>. Ésta se debe a factores dependientes del sistema de remoción (tipo de membranas, tamaño de poro y la capacidad de adsorción del filtro), de las características del fármaco (baja unión a proteínas plasmáticas, bajos Vd y Cl endógeno, alta hidrofiliidad y tamaño molecular pequeño) y de cambios farmacocinéticos del paciente (hipoalbuminemia, trastornos de permeabilidad capilar y alteraciones del Vd) las que generan concentraciones plasmá-

tics menores a las esperadas<sup>2,3,7,16</sup>. Muchos de los fármacos que comúnmente empleamos en terapia intensiva cumplen estos criterios, siendo los antibióticos los más estudiados, lo que sugiere fuertemente la necesidad de ajustes de dosis para lograr eficacia farmacológica durante todo el procedimiento<sup>16</sup>.

Actualmente, la hemofiltración de alto volumen (HFAV) es un procedimiento de rescate hemodinámico cada vez más utilizado en UCI<sup>17</sup>. En nuestras unidades forma parte del manejo del shock séptico refractario<sup>14,18,19</sup>, pero aún falta precisar cómo esta técnica altera los procesos farmacocinéticos y, por ende, la dosificación de medicamentos. Por ejemplo, se ha visto que durante la HFAV en pacientes sépticos, el CI de meropenem ocurre casi exclusivamente por la hemofiltración, siendo necesario administrar la dosis de 1g/8 h para mantener concentraciones adecuadas, a pesar del deterioro renal<sup>20</sup>. Otro ejemplo es vancomicina, glicopéptido de gran tamaño molecular, que es removida significativamente durante hemofiltraciones y hemodiafiltraciones<sup>21,22</sup>. Un estudio realizado en HFAV recomienda administrar una dosis equivalente a la de un paciente con función renal normal para asegurar una concentración efectiva, compensando el importante CI extracorpóreo generado<sup>23</sup>.

Este comportamiento terapéutico hace pensar que existe el riesgo de concentraciones subterapéuticas de antibióticos, con una posible asociación a una falla terapéutica, pobres resultados clínicos y aumento en el desarrollo de resistencia bacteriana<sup>16</sup>.

### Índices farmacocinéticos y farmacodinámicos (PK/PD) para antimicrobianos

Los antimicrobianos son el grupo terapéutico de mayor interés por varias razones: debido a que la sepsis grave y shock séptico son las principales causas de ingreso a UCIs, con una prevalencia de 33% en Chile<sup>24</sup> asociados a elevados costos económicos, utilización de muchos recursos sanitarios<sup>25</sup> y alta morbilidad. Tampoco es posible medir directamente su efecto con algún parámetro clínico, como sí ocurre con otros fármacos (escalas de sedación, medición de presión arterial, glicemia, INR, etc.). Además sabemos que la administración oportuna y correcta determinaría una reducción de la mortalidad en la UCI y porque su uso inapropiado facilita la selección de cepas resistentes, acotando las alternativas terapéuticas actualmente disponibles<sup>26</sup>.

Para su efectividad, se requiere cumplir ciertas relaciones farmacocinéticas y farmacodinámicas (llamado PK/PD por *Pharmacokinetics/Pharmacodynamics*) entre la concentración plasmática alcanzada y el tiempo que esa concentración se mantiene sobre la concentración inhibitoria mínima (CIM) del patógeno causante de la infección<sup>6-8,16,27</sup> (Tabla 2). La combinación de ambos parámetros puede permitir una aproximación sobre la respuesta terapéutica que se obtendrá, ya que ninguno por sí solo puede entregar información completa. La farmacocinética no entrega información de efectividad, y la farmacodinamia sobre la disposición de los antibióticos<sup>27</sup>.

Tabla 2. Relaciones farmacocinéticas/farmacodinámicas para los antimicrobianos

Índice PK/PD	Clasificación	Descripción	Ejemplos
$C_{max}/CIM$	Concentración-dependiente	Relación entre la concentración máxima del antibiótico y la CIM del patógeno causante de la infección	Aminoglicósidos
$T > CIM$	Tiempo-dependiente	Tiempo en que la concentración del antibiótico supera la CIM durante el intervalo de administración	$\beta$ -lactámicos: Cefalosporinas Carbapenémicos
$ABC/CIM$	Concentración-dependiente según el tiempo	Relación entre el área bajo la curva de la concentración del antibiótico durante 24 horas, respecto a la CIM del patógeno causante de la infección	Glicopéptidos: Vancomicina Fluoroquinolonas

PK/PD: farmacocinética/farmacodinamia.  $C_{max}$ : Concentración máxima del antibiótico alcanzada durante el intervalo de administración. CIM: Concentración Inhibitoria Mínima. T: Tiempo. Intervalo de administración. ABC: Área bajo la curva en gráfico Concentración plasmática versus Tiempo.

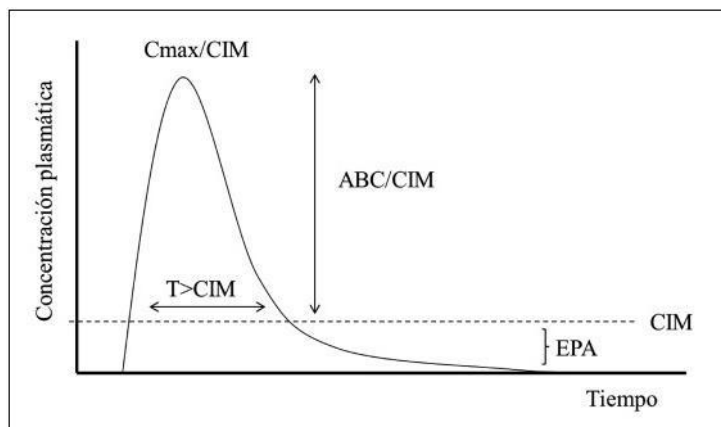
Según eso, los antibióticos se clasifican como *concentración-dependiente* o *tiempo-dependiente* (*concentración independiente*) dado por el gráfico de concentración plasmática/tiempo (Figura 1), que ha permitido hacer la terapia antimicrobiana más segura y efectiva<sup>4,27-29</sup>. Es la cantidad total administrada la que determina su eficacia<sup>27</sup>.

Los antibióticos *concentración-dependiente* (aminoglicósidos, fluoroquinolonas) deben alcanzar una concentración de fármaco libre al menos 10 veces mayor que la CIM del patógeno<sup>7</sup> sin efecto tóxico para el paciente. Como presentan efecto post-antibiótico, luego de decaer la concentración plasmática siguen ejerciendo acción bactericida. Se describe una razón  $C_{max}:CIM$  de 10:1 para aminoglicósidos. Asimismo, se requiere alcanzar una razón de área bajo la curva y la CIM (ABC:CIM) de 30:1 para quinolonas<sup>7,27,29</sup>.

En cambio, para los antibióticos *tiempo-dependiente* como los  $\beta$ -lactámicos, oxazolidinonas,

macrólidos y glicopéptidos, la eficacia estará dada por el tiempo entre dosis en que las concentraciones de fármaco libre excedan la CIM, la que debe ser al menos durante el 50% del intervalo de dosificación, aunque en el paciente crítico o inmunocomprometido se espera sea en 100% del intervalo<sup>3,27,29</sup>. De esta forma, se propone administrar altas dosis cada intervalos cortos y empleo de formulaciones de liberación sostenida o mediante infusiones continuas. Lo anterior permitiría disminuir las fluctuaciones de las concentraciones plasmáticas<sup>29,30</sup>, siempre que la estabilidad fisico-química del medicamento lo permitiera.

Aun cuando existan factores dependientes del paciente, sobre todo pacientes críticos, que modifiquen la disposición de los antibióticos, las propiedades fisicoquímicas de los antibióticos también son importantes para su utilización correcta (Tabla 3). Todo indica que en la práctica, se obstaculiza conseguir concentraciones plasmáticas esperadas.



**Figura 1.** Parámetros farmacocinético/farmacodinámicos para antibióticos. CIM: Concentración inhibitoria mínima. EPA: Efecto post-antibiótico. T>CIM: Tiempo del intervalo de dosificación que la concentración del antibiótico supera la CIM.  $C_{max}/CIM$ : Razón entre la concentración máxima y la concentración inhibitoria mínima.  $ABC/CIM$ : Razón entre el área bajo la curva y la concentración inhibitoria mínima.

**Tabla 3. Clasificación de antimicrobianos según propiedades fisicoquímicas**

Propiedad	Consideraciones
<b>Hidrofílicos</b> $\beta$ -lactámicos: Penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactams Glicopéptidos Aminoglicósidos	Vd normalmente bajo, pero susceptibles de modificarse por los factores que afectan el Vd en el paciente crítico. Difícilmente atraviesan membranas, por lo que no tienen penetración intracelular. Eliminación principalmente renal, casi inalterados en orina
<b>Lipofílicos</b> Macrólidos Fluoroquinolonas Tetraciclinas	Gran Vd, fuera del espacio vascular. Buena penetración intracelular. Requieren metabolismo normalmente hepático para ser excretados

Vd: Volumen de distribución.

Suelen emplearse asociaciones de  $\beta$ -lactámicos junto a glicopéptidos o aminoglicósidos durante los primeros días de tratamiento hasta identificar el patógeno, y luego *desescalar* al más específico. Sin embargo, con dosis adecuadas según la función renal del paciente, se ha demostrado que se obtienen concentraciones plasmáticas insuficientes con las primeras administraciones de  $\beta$ -lactámicos, sin lograr superar la CIM de *Pseudomona aeruginosa*<sup>30</sup>. Esta información ha motivado proponer estudios farmacocinéticos al ingreso de los pacientes a UCI, para dosificar los antibióticos pese a todas las variables fisiopatológicas que conducen a concentraciones inefectivas<sup>31</sup>.

Un estudio de monitorización de imipinem en una UCI pediátrica reveló una baja dosificación en 30% de los casos junto a una gran variación inter-individual de los parámetros farmacocinéticos<sup>32</sup>, situación también observada en adultos<sup>33</sup>, concluyéndose que el monitoreo de fármacos debería ser frecuente y no basarse exclusivamente en algoritmos para el ajustar las dosis en pacientes inestables<sup>4,6-8,27-29</sup>.

Otro ejemplo es cefepime, que en dosis de 2 g/12 h es apropiado y seguro en pacientes con  $Cl_{crea} > 50$  ml/min. Sin embargo, esta dosificación es baja en 50% de los pacientes infectados con gérmenes con CIM  $> 8$  mg/L con igual riesgo de toxicidad neurológica<sup>34</sup>.

Actualmente, la simulación de Montecarlo ha integrado parámetros PK, PD y de CIM del patógeno como una aproximación más real para definir las dosis<sup>28</sup>.

### Monitorización de antibióticos

Por lo expuesto, para optimizar una terapia con antibióticos no sólo se deben considerar los parámetros PK/PD, también es necesaria la monitorización debido a la alta variabilidad interindividual en los pacientes. Esto ha llevado al desarrollo simulaciones y modelos farmacocinéticos en subgrupos específicos de pacientes, sin embargo, la experiencia es aún limitada<sup>28</sup>.

De esta forma, cuando apliquemos la farmacocinética en la práctica clínica podremos realizar una dosificación acorde a las necesidades de nuestros pacientes, pareciendo ser costo-efectiva para ciertos grupos terapéuticos como lo son los aminoglicósidos<sup>35</sup>. Se ha sugerido monitorizar aquellos fármacos con estrecho margen terapéutico, que

se asocian a un alto riesgo de toxicidad o con alta variabilidad de las características farmacocinéticas. Así, pacientes con función renal deteriorada, con variaciones del Vd como grandes quemados, sépticos o pacientes obesos, debieran ser candidatos para medir niveles de aquellos fármacos no evaluables por respuesta clínica, con el objetivo de individualizar la dosis a partir de la interpretación de los valores de su concentración plasmática<sup>1,36,37</sup>. En el caso de los antibióticos, la monitorización puede ser la herramienta que caracterice el mejor esquema de dosificación para lograr eficacia y evitar aparición de resistencia, independiente si el antibiótico en cuestión es de estrecho margen terapéutico o no.

No obstante, la interpretación de las concentraciones obtenidas es discutible. La variabilidad en los procesos de obtención de las muestras (tiempo-pos, intervalos, dosificación, etc.) y las metodologías analíticas disponibles son factores limitantes para generar datos adecuados, lo que dependerá de cada laboratorio clínico<sup>36,38</sup> y del conocimiento en farmacocinética de quien reciba esa información.

La monitorización terapéutica se realiza rutinariamente para dosificar aminoglicósidos y glicopéptidos entre otros, pero podría ofrecer ventajas terapéuticas para más fármacos, siempre que se cuente con las metodologías analíticas apropiadas<sup>36</sup>.

Para vancomicina, se recomienda medir concentraciones séricas una vez a la semana para pacientes hemodinámicamente estables y con más frecuencia para aquellos más graves, justo antes de la siguiente dosis (nivel valle), luego de haber alcanzado el *steady-state* o estado de equilibrio (después de la cuarta dosis), siempre y cuando la administración se realice 2 ó 3 veces/día<sup>22,36,37,39</sup>. En pacientes con VFG  $< 10$  mL/min, debiera realizarse a las 48 hrs. Se espera alcanzar una concentración  $\geq 10$  mg/L para evitar el desarrollo de resistencia y una relación ABC/CIM  $> 400$ <sup>22,38,39</sup>. Con una concentración valle de 15 a 20 mg/L mejoraría la penetración en tejidos y con ello, la respuesta clínica.

### Otras aplicaciones de la farmacocinética clínica

La *Target Concentration Intervention* (TCI) a diferencia del *Therapeutic Drug Monitoring* (TDM), consiste en modificar la dosis de un medi-

camento a tiempo real para optimizar la respuesta de un paciente individual, alcanzando los niveles de concentración esperados según datos farmacocinéticos poblacionales<sup>40,41</sup>. En ese escenario, se ha propuesto cambiar la forma de administrar algunos medicamentos en UCI, pasando de bolo intravenoso a infusión continua programada, principalmente para opioides, propofol y otros anestésicos de acuerdo a un modelo farmacocinético definido que genere concentraciones estables en el tiempo o que puedan ser modificadas rápida y fácilmente<sup>40</sup>, ya que conseguir un equilibrio entre sedación excesiva o insuficiente es un desafío constante en la UCI<sup>42</sup>.

El primer ejemplo de esta aplicación fue la administración de propofol. Dependiendo de la edad, sexo y el peso del paciente, se administran continuamente dosis que generen concentraciones plasmáticas estables, según un modelo farmacocinético tricompartmental<sup>40</sup>.

También midazolam se utiliza frecuentemente dado su efecto sedante, amnésico y rápido inicio de acción, pero se describe una alta variabilidad inter-individual en su respuesta, tanto por acumulación en falla renal o por interacción con otros fármacos que inhiben su metabolismo hepático, teniendo variable vida media de eliminación<sup>11,41-43</sup>.

Así, se ha propuesto administrar un bolo de carga seguido de una infusión continua para lograr concentraciones plasmáticas más estables, con un efecto controlado<sup>44</sup>.

Para vancomicina, la infusión prolongada no ha mostrado tener mejor efectividad comparado con las infusiones intermitentes<sup>39</sup>, caso contrario para  $\beta$ -lactámicos, con los que sí se han visto ventajas<sup>45</sup>.

## Conclusiones

Se ha observado que las alteraciones fisiopatológicas que manifiestan los pacientes críticos, pueden generar cambios significativos y dinámicos en uno o en varios de los cuatro procesos farmacocinéticos (ADME). Lo anterior se ha expresado como gran variabilidad entre pacientes frente a iguales dosis administradas.

Debido a esto, es necesario individualizar las terapias de medicamentos que pueden salvar vidas, como son los antibióticos. Ellos representan uno de los medicamentos más usados en las UCIs y

que requieren relaciones PK/PD definidas para emplearse.

Lo esperable es que la farmacocinética clínica se convierta en una herramienta con mayor utilización en el apoyo individualizado de las terapias en la UCI. Ello permitirá mejorar el uso de medicamentos y, a la vez, maximizar su eficacia y/o reducir las potenciales toxicidades. Se han elaborado y publicado variados estudios, pero restan aún muchos aspectos farmacocinéticos inciertos por aclarar.

## Referencias

1. Introduction to clinical pharmacokinetics y basic pharmacokinetic principles. En: DiPiro J, Blouin R, Pruemer J, Spruill W. *Concepts in clinical pharmacokinetics*. Estados Unidos: Segunda edición. American Society of Health-System Pharmacists; 1996. p.1-40.
2. Boucher BA, Wood GC, Swanson JM. Pharmacokinetic changes in critically illness. *Crit Care Clin* 2006; 22 (2): 255-71.
3. Power BM, Forber AM, van Heerden PV, Ilett KF. Pharmacokinetics of drugs used in critically ill adults. *Clin Pharmacokinet* 1998; 34 (1): 25-56.
4. Varghese JM, Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics in critically ill patients. *Curr Opin Anaesthesiol* 2010; 23: 472-8.
5. Robinson S, Zinck A, Strøm T, Larsen TB, Rasmussen B, Toft P. Enoxaparin, effective dosage for intensive care patients: double-blinded, randomized clinical trial. *Crit Care* 2010; 14 (2): R41.
6. Varghese JM, Roberts JA, Lipman J. Antimicrobial pharmacokinetic and pharmacodynamic issues in the critically ill with severe sepsis and septic shock. *Crit Care Clin* 2011; 27 (1): 19-34.
7. Pea F, Viale P, Furlanut M. Antimicrobial therapy in critically ill patients. A review of pathophysiological conditions responsible for altered disposition and pharmacokinetic variability. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44 (10): 1009-34.
8. Liu P, Müller M, Derendorf H. Rational dosing of antibiotics: the use of plasma concentration versus tissue concentration. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 19 (4): 285-90.
9. Lagneau F, Perbet S, Delefosse D, Wernet A, Stocco J, Marty J. Drugs pharmacokinetics in ICU patients: consequences of hypoalbuminemia upon drugs monitoring and dosing scheme. *Intensive Care Med* 2004; 30 (6): 1247.

10. Park G. Molecular mechanisms of drug metabolism in the critically ill. *Br J Anaesth* 1996; 77 (1): 32-49.
11. Kirwan CJ, Lee T, Holt DW, Grounds RM, MacPhee IA, Philips BJ. Using midazolam to monitor changes in hepatic drug metabolism in critically ill patients. *Intensive Care Med* 2009; 35 (7): 1271-5.
12. Verbeeck RK, Musumba FT. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with renal dysfunction. *Eur J Clin Pharmacol* 2009; 65 (8): 757-73.
13. Greenberg E, Saad N, Abraham T, Balmir E. Drug dosage adjustment using renal estimation equations: a review of the literature. *Hosp Pharm* 2009; 44 (7): 577-84.
14. Regueira T, Andresen M, Mercado M, Downey P. Fisiopatología de la insuficiencia renal aguda durante la sepsis. *Med Intensiva* 2011; 35 (7): 424-32.
15. Udy AA, Roberts JA, Boots RJ, Peterson DL, Lipman J. Augmented renal clearance. Implications for antibacterial dosing in the critically ill. *Clin Pharmacokinet* 2010; 49 (1): 1-16.
16. Pea F, Viale P, Pavan F, Furlan M. Pharmacokinetic considerations for antimicrobial therapy in patients receiving renal replacement therapy. *Clin Pharmacokinet* 2007; 46 (12): 997-1038.
17. Romero CM, Downey P, Hernández G. Hemofiltración de alto volumen en shock séptico. *Med Intensiva* 2010; 34 (5): 345-52.
18. Cornejo R, Downey P, Castro R, Romero C, Regueira T, Vega J, et al. High-volume hemofiltration as salvage therapy in severe hyperdynamic septic shock. *Intensive Care Med* 2006; 32 (5): 713-22.
19. Da Costa D, Gabrielli L, Andresen M, Downey P, Castro P. Shock cardiogénico por infarto agudo del miocardio manejado con hemofiltración de alto volumen: Caso clínico. *Rev Med Chile* 2009; 137: 1357-62.
20. Bilgrami I, Roberts JA, Wallis SC, Thomas J, Davis J, Fowler S, et al. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis receiving high-volume continuous venovenous hemofiltration. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54 (7): 2974-8.
21. Boereboom FT, Ververs FF, Blankestijn PJ, Savelkoul TJ, van Dijk A. Vancomycin clearance during continuous venovenous haemofiltration in critically ill patients. *Intensive Care Med* 1999; 25 (10): 1100-4.
22. del Mar Fernández de Gatta García M, Revilla N, Calvo MN, Domínguez-Gil A, Sánchez A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of vancomycin in ICU patients. *Intensive Care Med* 2007; 33 (2): 279-85.
23. Uchino S, Cole L, Morimatsu H, Goldsmith D, Bellomo R. Clearance of vancomycin during high-volume hemofiltration: impact of pre-dilution. *Intensive Care Med* 2002; 28 (11): 1664-7.
24. Dougnac A, Mercado M, Cornejo R, Cariaga M, Hernández G, Andresen M, et al. Prevalencia de sepsis grave en las Unidad de Cuidados Intensivos. Primer estudio multicéntrico. *Rev Med Chile* 2007; 135: 620-30.
25. O'Brien J, Ali N, Aberegg S, Abraham E. Sepsis. *Am J Med* 2007; 120 (2): 1012-22.
26. Morrell MR, Micek ST, Kollef MH. The management of severe sepsis and septic shock. *Infect Dis Clin North Am* 2009; 23 (3): 485-501.
27. Owens RC, Shorr AF. Rational dosing of antimicrobial agents: pharmacokinetic and pharmacodynamic strategies. *Am J Health Syst Pharm* 2009; 66 (12 Suppl. 4): S23-S30.
28. Lodise T, Drusano GL. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: optimal antimicrobial therapy in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 2011; 27: 1-18.
29. Taccone F, Hites M, Beumier M, Scolletta S, Jacobs F. Appropriate antibiotic dosage levels in the treatments of severe sepsis and septic shock. *Curr Infect Dis Rep* 2011; 13 (5): 406-15.
30. Taccone F, Laterre PF, Dugernier T, Spapen H, Delattre I, Wittebole X, et al. Insufficient lactam concentration in the early phase of severe sepsis and septic shock. *Crit Care* 2010; 14 (4): R126.
31. Roberts JA, Roberts MS, Semark A, Udy AA, Kirkpatrick CM, Paterson DL, et al. Antibiotic dosing in the "at risk" critically ill patients: linking pathophysiology with pharmacokinetics/pharmacodynamics in sepsis and trauma patients. *BMC Anesthesiol* 2011; 11: 3.
32. Giannoni E, Moreillon P, Cotting J, Moessinger A, Billie J, Décosterd L, et al. Prospective determination of plasma imipenem concentration in critically ill children. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50 (7): 2563-8.
33. Belzberg H, Zhu J, Cornwell EE, Murray JA, Sava J, Salim A, et al. Imipenem levels are not predictable in the critically ill patients. *J Trauma* 2004; 56 (1): 111-7.
34. Roos JF, Bulitta J, Lipman J, Kirkpatrick CM. Pharmacokinetic-pharmacodynamic rationale for cefepime dosing regimens in intensive care units. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58 (5): 987-93.
35. Touw D, Neef C, Thomson A, Vinks A. Cost-effectiveness of therapeutic drug monitoring: an update. *EJHP Science* 2007; 13 (4): 83-91.
36. Álvarez-Lerma F, Olaechea P, Grau S, Marín M, Domínguez A, Martínez-Lanao J, et al. Recomendaciones para la monitorización de antibióticos en pacientes críticos ingresados en UCI. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2008; 26 (4): 230-9.
37. Walson PD. Therapeutic drug monitoring in special populations. *Clin Chem* 1998; 44 (2): 415-9.
38. Grau S, Álvarez-Lerma F, Domínguez-Gil A. Pharma-

- cokinetic/pharmacodynamic indices: are we ready to use them in daily practice? *Expert Rev Anti-Infect Ther* 2007; 5(6): 913-6.
39. Martin J, Norris R, Barras M, Roberts JA, Morris R, Doogue M, et al. Therapeutic Monitoring of vancomycin in adult patients. A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacist, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacist. *Clin Biochem Rev* 2010; 31 (1): 21-4.
  40. Milne S, Kenny G. Target controlled infusions. *Curr Anaesth Crit Care* 1998; 9 (4): 174-9.
  41. Guarracino F, Lapolla F, Cariello C, Danella A, Droni L, Baldassarri R, et al. Target Controlled Infusion: TCI. *Minerva Anestesiol* 2005; 71 (6): 335-7.
  42. Young CC, Prielipp RC. Benzodiazepines in the Intensive Care Unit. *Crit Care Clin* 2001; 17 (4): 843-62.
  43. Spina SP, Ensom MH. Clinical pharmacokinetic monitoring of midazolam in critically ill patients. *Pharmacotherapy* 2007; 27 (3): 389-98.
  44. Fragen RJ. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of midazolam given via continuous intravenous infusion in intensive care units. *Clin Ther* 1997; 19 (3): 405-19.
  45. Lee LS, Kinzig-Schippers M, Nafziger AN, Ma L, Sörgel F, Jones RN, et al. Comparison of 30-min and 3-h infusion regimens for imipenem/cilastatin and for meropenem evaluated by Monte Carlo simulation. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010; 68 (3): 251-8.



## Short Communication

## Population pharmacokinetics and dose simulation of vancomycin in critically ill patients during high-volume haemofiltration



Leslie Escobar <sup>a</sup>, Max Andresen <sup>b,\*</sup>, Patricio Downey <sup>c</sup>, Maria Nella Gai <sup>a</sup>, Tomás Regueira <sup>b</sup>, Tamara Bórquez <sup>c</sup>, Jeffrey Lipman <sup>d</sup>, Jason A. Roberts <sup>d,e</sup>

<sup>a</sup> Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences, University of Chile, Santos Dumont 964, Santiago, Chile

<sup>b</sup> Department of Intensive Care Medicine, Hospital Clínico Universidad Católica de Chile, Marcoleta 347, Santiago 8330024, Chile

<sup>c</sup> Department of Nephrology, Hospital Clínico Universidad Católica de Chile, Marcoleta 347, Santiago, Chile

<sup>d</sup> Burns, Trauma and Critical Care Research Centre, The University of Queensland, Brisbane, QLD, Australia

<sup>e</sup> Royal Brisbane and Women's Hospital, Brisbane, QLD, Australia

## article info

## Article history:

Received 15 January 2014

Accepted 23 March 2014

## Keywords:

Vancomycin

Population pharmacokinetics

Critically ill patient High-

volume haemofiltration Dose

simulation

## abstract

This study aimed to describe the population pharmacokinetics of vancomycin in critically ill patients with refractory septic shock undergoing continuous venovenous high-volume haemofiltration (HVHF) and to define appropriate dosing for these patients. This was a prospective pharmacokinetic study in the ICU of a university hospital. Eight blood samples were taken over one vancomycin dosing interval. Samples were analysed by a validated liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay. Non-linear mixed-effects modelling was used to describe the population pharmacokinetics. Dosing simulations were used to define therapeutic vancomycin doses for different HVHF settings. Nine patients were included (five male). The mean weight and SOFA score were 70 kg and 11, respectively. Mean HVHF settings were: blood flow rate, 240 mL/min; and haemofiltration exchange rate, 100 mL/kg/h. A linear two-compartment model with zero-order input adequately described the data. Mean parameter estimates were: clearance, 2.9 L/h; volume of distribution of central compartment ( $V_1$ ), 11.8 L; volume of distribution of peripheral compartment ( $V_2$ ), 18.0 L; and intercompartmental clearance, 9.3 L/h. HVHF intensity was strongly associated with vancomycin clearance ( $P < 0.05$ ) and was a covariate in the final model. Simulations indicate that after a loading dose, vancomycin doses required for different HVHF intensities would be 750 mg every 12 h (q12 h) for 69 mL/kg/h, 1000 mg q12 h for 100 mL/kg/h and 1500 mg q12 h for 123 mL/kg/h. Continuous infusion would also be a valuable administration strategy. In conclusion, variable and much higher than standard vancomycin doses are required to achieve therapeutic concentrations during different HVHF settings.

© 2014 Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved.

## 1. Introduction

Continuous venovenous haemofiltration with high-volume exchange is used in intensive care units (ICUs) as part of the management of patients with refractory septic shock and/or acute kidney injury [1]. This form of renal replacement therapy (RRT) is commonly termed high-volume haemofiltration (HVHF) and employs haemofiltration rates that may exceed 100 mL/kg/h. Because HVHF removes pro-inflammatory mediators that are associated with haemodynamic compromise, it can be prescribed as either pulse 6-h treatments [2], as a continuous treatment for  $\geq 12$  h or as RRT to improve haemodynamics and other physiological

conditions in critically ill patients with progressive refractory hypotension and lactic acidosis [3].

The amount of solute removed during HVHF is still uncertain. For antibiotics, effective dosing is a significant challenge because robust dosing recommendations in this context are scarce. A HVHF study of a hydrophilic antibiotic suggests that a higher dose is required in the presence of HVHF because of dramatically increased drug clearance [4].

Vancomycin is a widely used antibiotic in critically ill patients with sepsis. It is still the first-line treatment for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in many countries. Previous studies of vancomycin pharmacokinetics during RRT have shown different vancomycin clearances [5,6], resulting in variable achievement of target plasma concentrations [7,8]. Dosing recommendations have been proposed for haemofiltration rates  $< 45$  mL/kg/h but not for higher substitution volumes. Therefore, if



standard vancomycin doses are used during HVHF, subtherapeutic concentrations are highly likely to result.

To date, we are unaware of any studies investigating the effect of HVHF of ca. 100 mL/kg/h on vancomycin pharmacokinetics in critically ill septic patients and are not aware of any dosing guidelines in this scenario.

The aim of this study was to describe the population pharmacokinetics of vancomycin in patients undergoing HVHF for septic shock treatment and to propose appropriate doses for achievement of target concentrations.

## 2. Materials and methods

This was an observational prospective pharmacokinetic study performed in the ICU of Universidad Católica Clinical Hospital (Santiago, Chile). The institutional review board approved the study, and written informed consent was obtained from the legally authorised representative of each patient.

Eligible patients aged  $\geq 18$  years with sepsis or severe septic shock requiring HVHF who were prescribed vancomycin were recruited over a 1-year period (June 2011 to June 2012).

### 2.1. High-volume haemofiltration settings

HVHF was performed in pre-dilution mode (Diapact™ CRRT machine; B. Braun, Melsungen, Germany) with a polysulfone haemofilter (1.5 m<sup>2</sup> or 2 m<sup>2</sup> surface area membrane) (Diacap® Acute; B. Braun). The substitution flow rate was targeted at ca. 100 mL/kg/h and the blood flow rate ( $Q_b$ ) at ca. 250 mL/min. A neutral fluid balance was prescribed and the need for anticoagulation was assessed in individual patients.

### 2.2. Blood sampling

Vancomycin (Hospira Inc., Lake Forest, IL) dosing was 1 g daily by central venous catheter infusion in every patient. Each dose was reconstituted and diluted in 100 mL of normal saline solution and was given with a standard 1-h infusion time.

Blood samples were obtained from the pre-filter port on the HVHF machine at 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9 and 12 h relative to the commencement of the 1-h vancomycin infusion.

### 2.3. Vancomycin assay

A validated liquid chromatography–tandem mass spectrometry (Acquity™ UPLC System; Waters Corp., Milford, MA) assay was used for the determination of vancomycin plasma concentrations. A BEH C18 column was employed for chromatographic separation in isocratic run. For detection, the transition mass/charge was 725.2 → 144.0 in positive mode. Linearity was achieved between 0.63 mg/L to 80.00 mg/L ( $R^2 = 0.999$ ). Intraday and interday imprecision were also  $<5\%$  for all the levels evaluated. The limit of detection and limit of quantification were 0.22 mg/L and 0.63 mg/L, respectively.

### 2.4. Population pharmacokinetic analysis

Vancomycin concentration–time data were analysed using non-linear mixed-effects modelling (NONMEM™ 7.2; Globomax LLC, Hanover, MD). One- and two-compartment models were initially evaluated. Between-subject variability (BSV) for all parameters was evaluated using an exponential variability model. For the residual unexplained variability (RUV), additive, exponential and combined random-error models were tested.

A decrease of at least 3.84 points of the objective function value was required to demonstrate a statistically significant

improvement for a more complex model ( $P < 0.05$ ,  $\chi^2$  distribution). Visual inspection of diagnostic scatter plots was used to evaluate goodness of fit. Serum creatinine concentration, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II score and Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score on the day of enrolment, HVHF intensity, sex, filter surface area, body weight, body mass index (BMI),  $Q_b$  and patient age were evaluated as possible covariates for inclusion in the final model. The appropriateness of the model was confirmed based on graphical and statistical criteria. A non-parametric bootstrap ( $n = 1000$ ) was used to confirm the robustness of the parameters of the final covariate model.

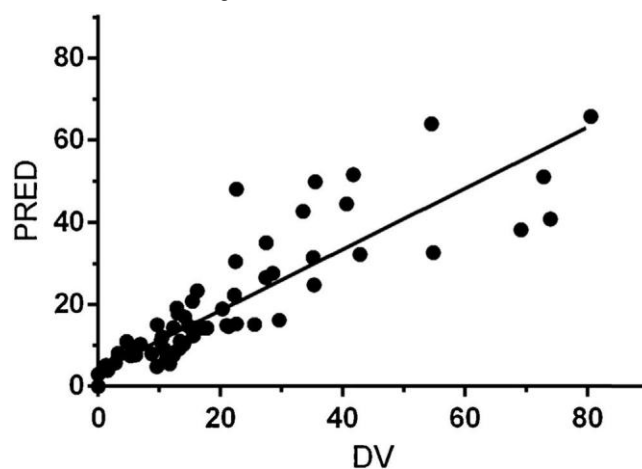
### 2.5. Other pharmacokinetic calculations and statistical methods

The area under the concentration–time curve from 0 to 12 h ( $AUC_{0-12}$ ) was calculated using the trapezoidal rule. The maximum ( $C_{max}$ ) and minimum ( $C_{min}$ ) concentrations for the dosing period were the observed values.

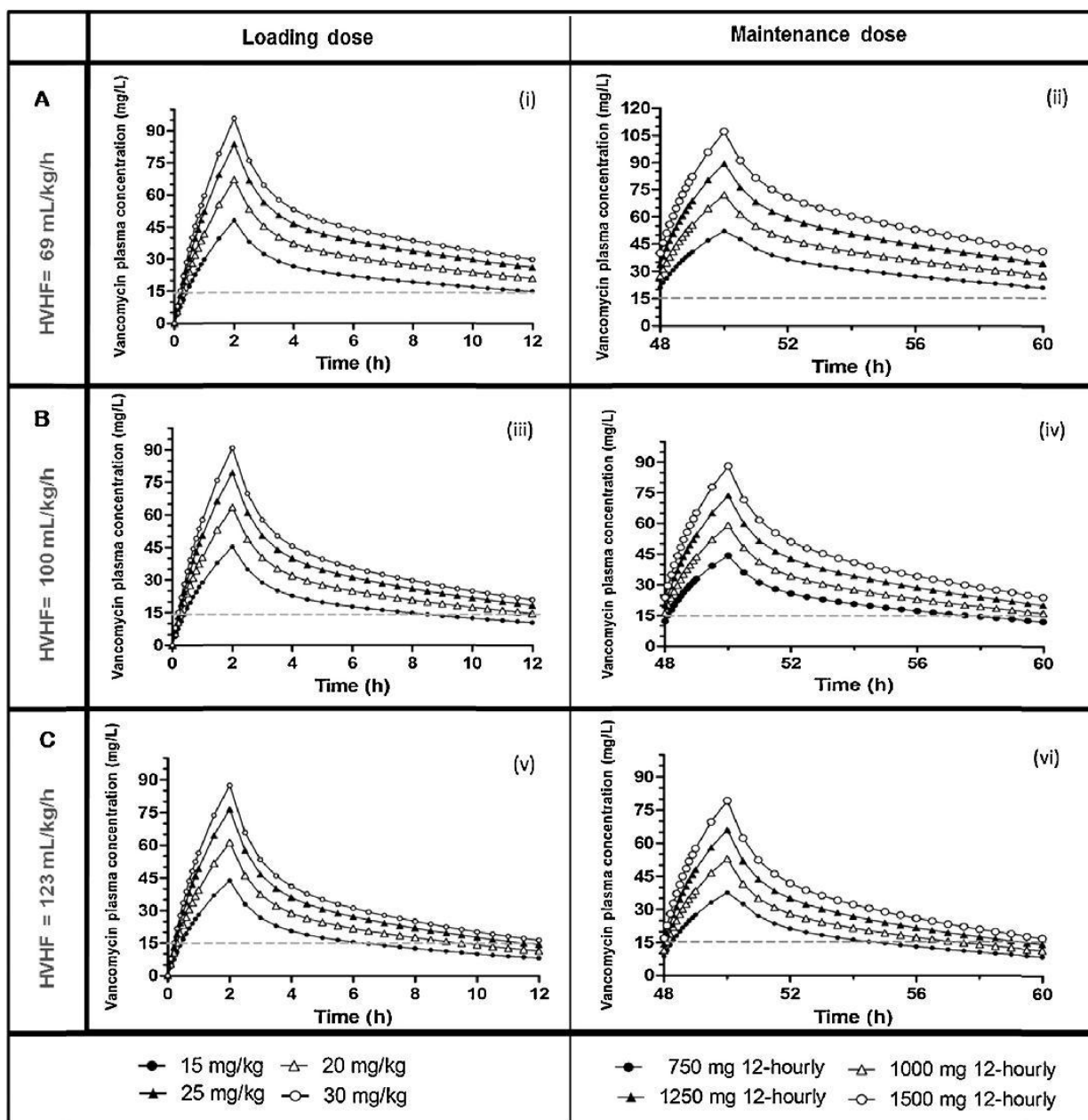
Descriptive statistics were applied and the results are pre-sented as the mean  $\pm$  standard deviation (S.D.). Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corp., Redmond, WA) and GraphPad Prism v.5.03 for Windows (GraphPad Software, San Diego, CA) were used to process data and to generate figures and tables.

### 2.6. Pharmacokinetic simulations

The final covariate model from the population pharmacokinetic analysis was used to simulate vancomycin dosing based on a 70-kg patient (mean body weight of the recruited patients). Various simulations of loading doses, maintenance doses and continuous infusions were simulated according to the possible posology of vancomycin. The effects of different rates of HVHF were evaluated using 69, 100 and 123 mL/kg/h (minimum, mean and maximum HVHF intensities observed in this study). The target trough concentrations of the loading dose and intermittent infusions were defined as 15–20 mg/L [9] and for continuous infusion was 20–30 mg/L [10]. The duration of infusion for loading and maintenance doses was evaluated to describe a non-toxic  $C_{max}$ . An adequate dose for each HVHF rate was described according to the above criteria.



**Fig. 1.** Goodness-of-fit plot. Correlation between observed and predicted plasma concentrations of vancomycin by the final covariate model.  $R^2 = 0.80$ . DV, dependent variable [vancomycin plasma concentrations (mg/L) of the patients studied]; PRED, population-predicted concentrations [vancomycin plasma concentrations (mg/L) obtained from the final covariate model].



**Fig. 2.** Simulation of vancomycin plasma concentrations depending on high-volume haemofiltration (HVHF) rates using different loading and maintenance doses. (A) (i) Loading dose of 20 mg/kg selected and (ii) a maintenance dose of 750 mg every 12 h (q12 h) for HVHF = 69 mL/kg/h. (B) (iii) Loading dose of 25 mg/kg selected and (iv) a maintenance dose of 1000 mg q12 h for HVHF = 100 mL/kg/h. (C) (v) Loading dose of 30 mg/kg selected and (vi) a maintenance dose of 1500 mg q12 h for HVHF = 123 mL/kg/h. ---, target trough vancomycin plasma concentration of 15 mg/L.

### 3. Results

#### 3.1. Clinical and demographic characteristics and high-volume haemofiltration prescription

As HVHF is not a frequently used rescue treatment in the ICU, only nine severe septic shock patients were included (five male). The mean  $\pm$  S.D. age was  $57 \pm 14$  years, weight  $70 \pm 18$  kg and BMI  $27 \pm 9$  kg/m<sup>2</sup>, respectively. The mean  $\pm$  S.D. APACHE II and SOFA scores were  $31 \pm 7$  and  $11 \pm 4$ , respectively. Six patients were anuric and three were oliguric before HVHF. The vancomycin prescription was 1000 mg intravenous daily as a 1-h infusion in all patients. The

HVHF settings were a mean  $Q_b$  of  $240 \pm 20$  mL/min and a haemofiltration dose of  $100 \pm 18$  mL/kg/h (range 69–123 mL/kg/h).

#### 3.2. Vancomycin pharmacokinetics

The mean vancomycin plasma  $C_{max}$  was  $72.7 \pm 53.9$  mg/L and  $C_{min}$  was  $12.2 \pm 10.6$  mg/L. The  $AUC_{0-12}$  was  $319 \pm 251$  mg h/L. After 12 h of HVHF, only two patients had a vancomycin  $C_{min} > 20$  mg/L. In all other patients the vancomycin  $C_{min}$  was  $< 11$  mg/L.

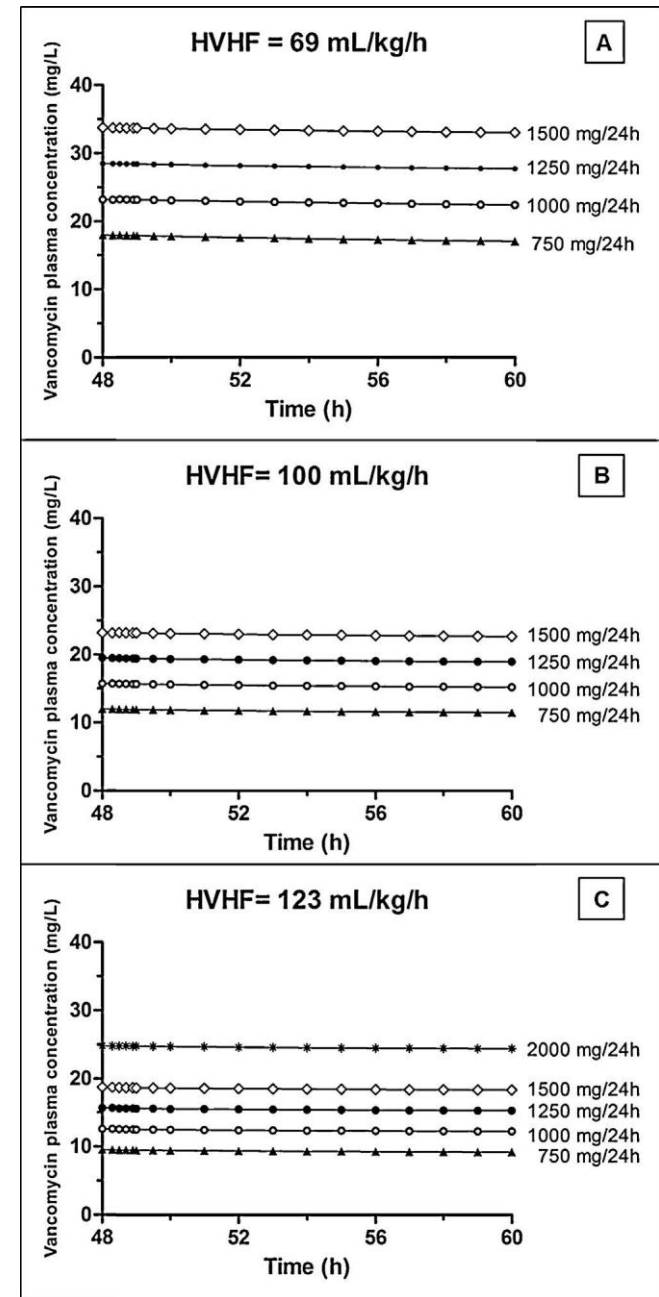
The 68 vancomycin plasma samples were best described as a two-compartment linear model with zero-order input. An additive

and exponential model was used to describe RUV variability error. BSV was supported on all parameters.

Of all the covariates studied, only HVHF intensity was identified as a statistically significant covariate associated with vancomycin clearance ( $P < 0.05$ ) as follows:

$$TVCL = \frac{\theta}{100}$$

where TVCL is the typical value of clearance and  $\theta$  is the HVHF rate.



**Fig. 3.** Simulation of vancomycin plasma concentration for continuous infusion. Doses to achieve optimal range: 20–30 mg/L [10]. (A) Continuous infusion of 1000–1250 mg of vancomycin over 24 h during HVHF = 69 mL/kg/h after a loading dose of 20 mg/kg. (B) Continuous infusion of 1500 mg of vancomycin over 24 h during HVHF = 100 mL/kg/h after a loading dose of 25 mg/kg. (C) Continuous infusion of 2000 mg of vancomycin over 24 h during HVHF = 123 mL/kg/h after a loading dose of 30 mg/kg. HVHF, high-volume haemofiltration.

The goodness-of-fit plots showed that the final covariate pharmacokinetic model adequately described the observed vancomycin concentrations. Acceptable correlations of both the population ( $R^2 = 0.80$ ) and individual ( $R^2 = 0.98$ ) predicted vancomycin concentration versus the observed vancomycin concentration were obtained (Fig. 1).

The parameter estimates from this model matched the bootstrap results sufficiently: mean population clearance (CL) = 2.7 L/h (bootstrap mean  $2.9 \pm 0.5$ ); volume of distribution of the central compartment ( $V_1$ ) = 11.9 L (bootstrap mean  $11.8 \pm 1.4$ ); volume of distribution of the peripheral compartment ( $V_2$ ) = 17.3 L (bootstrap mean  $18.0 \pm 3.1$ ); and intercompartmental clearance (Q) = 4.9 L/h (bootstrap mean  $9.3 \pm 5.3$ ).

### 3.3. Dosing simulations

As HVHF intensity was the main covariate in the model, the simulations of vancomycin doses were performed using three different haemofiltration rates. These were the minimum, mean and maximum HVHF intensities used in our patients. The simulated profiles are shown in Fig. 2. The appropriate loading dose to achieve the target concentrations for each HVHF rate was first defined. Then, this loading dose was used to evaluate the appropriate maintenance dose.

The appropriate loading doses for 69, 100 and 123 mL/kg/h HVHF rates were 20, 25 and 30 mg/kg vancomycin, respectively.

Intermittent infusion frequencies were simulated at every 8, 12 and 24 h, with 12 h being shown to be the most convenient interval to achieve target concentrations. Moreover, an infusion duration for loading and maintenance doses of 2 h was shown to be adequate to avoid possible toxic  $C_{max}$ .

The maintenance doses for 69, 100 and 123 mL/kg/h were 750, 1000 and 1500 mg every 12 h, respectively.

Continuous infusion during 24 h was also simulated in combination with the selected loading dose. In Fig. 3, the simulated vancomycin plasma concentration versus time and the adequate dose for each HVHF rate are shown. The suggested doses for 69, 100 and 123 mL/kg/h were 1000, 1500 and 2000 mg over 24 h to achieve a vancomycin plasma concentration of 20–30 mg/L.

## 4. Discussion

This study shows the inadequate vancomycin plasma concentrations achieved after a standard dose during HVHF rates close to 100 mL/kg/h. Even with much lower HVHF rates (ca. 56 mL/kg/h [8]), concentrations were insufficient.

This pharmacokinetic analysis showed a mean vancomycin clearance surprisingly similar to previous studies ( $<45$  mL/kg/h) [7,11,12] despite the higher ultrafiltration rate. This observation might be explained by the residual renal function of the patients included in the other studies that contribute to the total vancomycin clearance. Total drug clearance is the sum of the renal and extracorporeal clearance values. Thus, in anuric or oliguric patients such as in the current study, a higher HVHF rate would compensate for a lack of renal function.

For that reason, the intensity of the HVHF dose was the only covariate that could be included in the final pharmacokinetic model. This effect has also been demonstrated in other studies, although these had far lower haemofiltration intensities [12,13].

These results show that a standard vancomycin dose of 1000 mg/day should not be applied to all patients during HVHF. To avoid subtherapeutic vancomycin concentrations, a loading dose of  $\geq 20$  mg/kg is required. The maintenance dose should also consider the HVHF rate. A recent review suggests a slightly lower loading dose of 15–20 mg/kg followed by 10–15 mg/kg every 24 h for

a haemofiltration rate of 25 mL/kg/h in patients with acute kidney injury [14]. Our dosing simulations at higher HVHF rates (ca. 100 mL/kg/h) suggest that the maintenance doses should be higher and every 12 h. Continuous infusion may also be considered a useful alternative for vancomycin administration to maintain stable vancomycin concentrations [10,15].

This observational study has the limitation of a small sample size owing to a low number of eligible patients. Nevertheless, it is important to obtain data to guide empirical dosing during RRT in critically ill patients with refractory septic shock, particularly given that therapeutic drug monitoring (TDM) is not always available (vancomycin TDM is not available at the hospital where the study was undertaken). Given that a delay in achievement of therapeutic concentrations is likely to be associated with suboptimal outcomes, these data and dosing recommendations may improve the efficiency of dosing during HVHF.

In conclusion, vancomycin clearance during HVHF depends mainly on haemofiltration rate. Higher than standard doses of vancomycin are required to achieve therapeutic concentrations. A higher loading dose of vancomycin of  $\geq 20$  mg/kg given over 2 h followed by an intermittent 12-hourly or continuous infusion dose is recommended to provide target vancomycin concentrations in these patients. Further validation of these simulations could be helpful to develop more information during HVHF treatment.

#### Acknowledgments

The authors thank the nurses of the Unit of Nephrology of Universidad Católica Clinical Hospital (Santiago, Chile) for assistance with sample collection.

Funding: This work was supported by a postgraduate grant from the National Commission of Science and Technology (CONICYT) of Chile [grant AT2012 no. 24121225] to LE and by the Faculty of Medicine of Universidad Católica for interdepartmental research (Departments of Intensive Medicine and Nephrology). JAR is funded by a Career Development Fellowship from the National Health and Medical Research Council of Australia [NHMRC APP1048652]. The Burns, Trauma and Critical Care Research Centre (Brisbane, Australia) acknowledges its NHMRC project grant funding [APP1044941].

Competing interests: None declared.

Ethical approval: The study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee of the Universidad Católica Clinical

Hospital (Santiago, Chile) [project no. 10-176]. Written informed consent was obtained from the legally authorised representative of each patient.

#### References

- [1] Rimmelé T, Kellum JA. High -volume hemofiltration in the intensive care unit: a blood purification therapy. *Anesthesiology* 2012;116:1377–87.
- [2] Tapia P, Chinchón E, Morales D, Stehberg J, Simon F. Effectiveness of short-term 6-hour high -volume hemofiltration during refractory severe septic shock. *J Trauma Acute Care Surg* 2012;72:1228–37.
- [3] Comejo R, Downey P, Castro R, Romero C, Regueira T, Vega J, et al. High -volume hemofiltration as salvage therapy in severe hyperdynamic septic shock. *Intensive Care Med* 2006;32:713–22.
- [4] Bilgrami I, Roberts JA, Wallis SC, Thomas J, Davis J, Fowler S, et al. Meropenem dosing in critically ill patients with sepsis receiving high -volume continuous venovenous hemofiltration. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;54: 2974–8.
- [5] Uchino S, Cole L, Morimatsu H, Goldsmith D, Bellomo R. Clearance of vancomycin during high -volume hemofiltration: impact of pre-dilution. *Intensive Care Med* 2002;28:1664–7.
- [6] Chaijarnorn W, Jitsurong A, Wiwattanawongsa K, Wanakamane U, Dandecha P. Vancomycin clearance during continuous venovenous hemofiltration in critically ill patients. *Int J Antimicrob Agents* 2011;38:152–6.
- [7] Frazee EN, Kuper PJ, Schramm GE, Larson SL, Kashani KB, Osmon DR, et al. Effect of continuous venovenous hemofiltration dose on achievement of adequate vancomycin trough concentrations. *Antimicrob Agents Chemother* 2012;56:6181–5.
- [8] Paciullo CA, Harned KC, Davis GA, Connor MJ, Winstead PS. Vancomycin clearance in high -volume venovenous hemofiltration. *Ann Pharmacother* 2013;47:e14.
- [9] Rybak M, Lomaestro B, Rotschafer JC, Moellering R, Craig W, Billeter M, et al. Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Infectious Diseases, the Society of Infectious Diseases Pharmacists, and the Society of Health System Pharmacists. *Am J Health Syst Pharm* 2009;66:82–98.
- [10] Roberts JA, Taccone FS, Udy AA, Vincent J-L, Jacobs F, Lipman J. Vancomycin dosing in critically ill patients: robust methods for improved continuous-infusion regimens. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:2704–9.
- [11] Boereboom FTJ, Ververs FFT, Blankstijn PJ, Savelkoul TJF, van Dijk A. Vancomycin clearance during continuous venovenous hemofiltration in critically ill patients. *Intensive Care Med* 1999;25:1100–4.
- [12] Udy AA, Covajes C, Taccone FS, Jacobs F, Vincent J-L, Lipman J, et al. Can population pharmacokinetic modelling guide vancomycin dosing during continuous renal replacement therapy in critically ill patients? *Int J Antimicrob Agents* 2013;41:564–8.
- [13] Joy MS, Matzke GR, Frye RF, Palevsky PM. Determinants of vancomycin clearance by continuous venovenous hemofiltration and continuous venovenous hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 1998;31:1019–27.
- [14] Scoville BA, Mueller BA. Medication dosing in critically ill patients with acute kidney injury treated with renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis* 2013;61:490–500.
- [15] Covajes C, Scolletta S, Penaccini L, Ocampos-Martinez E, Abdelhadi A, Beumier M, et al. Continuous infusion of vancomycin in septic patients receiving continuous renal replacement therapy. *Int J Antimicrob Agents* 2013;41:261–6.

